

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA II

Título: **HELICOBACTER PYLORI: APORTACION AL ESTUDIO  
MICROBIOLOGICO, EPIDEMIOLOGICO Y PATOGENICO.**

Memoria que para optar al grado de Doctor en Farmacia  
presenta:

**GLORIA ROYO GARCIA.**

Directores: Dr. César Nombela Cano

Dr. Miguel Pérez-Mateo Regadera

Madrid 1.991

A mis padres.

**HELICOBACTER PYLORI: APORTACION AL ESTUDIO**

**MICROBIOLOGICO, EPIDEMIOLOGICO Y PATOGENICO.**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, mi recuerdo cariñoso para mi maestro el Dr. Moreno López, que supo infundir en todos sus alumnos su entusiasmo por la Microbiología.

Al Prof. Dr. D. César Nombela Cano, por su apoyo y ayuda incondicional.

Al Prof. Dr. D. Miguel Pérez-Mateo por toda su ayuda y ánimo para poder llegar hasta el final.

A todos los compañeros de la Unidad de Gastroenterología del Hospital General de Elche por su importante participación en la obtención de las biopsias gástricas.

A la Dra. D<sup>a</sup> Ana Teruel por su eficaz y desinteresada colaboración en el estudio histopatológico de las muestras.

Al Dr. A. Bernardo Olivera por su inestimable ayuda en la estadística y elaboración de las gráficas.

A la Dra. D<sup>a</sup> Coral Martín por su compañerismo y amistad.

Mi gratitud también al personal de Microbiología del Hospital General de Elche por su colaboración.

A todos, muchas gracias.

## I N D I C E

	<u>Pag.</u>
1. <u>INTRODUCCION</u> .....	1
1.1. RECUERDO HISTORICO .....	2
1.2. H. PYLORI: MICROBIOLOGIA .....	4
1.2.1. <u>TAXONOMIA</u> .....	4
1.2.2. <u>MORFOLOGIA</u> .....	6
1.2.3. <u>CULTIVO</u> .....	8
1.2.4. <u>CONTENIDO ENZIMATICO</u> .....	17
1.2.5. <u>IDENTIFICACION DE H. PYLORI</u> .	19
1.2.6. <u>SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA</u> .	21
1.3. RESPUESTA INMUNE .....	26
1.4. MODELOS ANIMALES .....	32
1.5. EPIDEMIOLOGIA DE LA INFECCION POR <u>H. PYLORI</u> .....	33
1.5.1. <u>PREVALENCIA DE LA INFECCION</u> .	33
1.5.2. <u>FUENTES Y MECANISMOS DE                     <u>TRANSMISION</u></u> .....	35
1.6. <u>HELICOBACTER PYLORI Y PATOLOGIA             GASTRODUODENAL</u> .....	38

	<u>Paq.</u>
1.6.1. <u>GASTRITIS</u> .....	38
1.6.2. <u>ULCERA PEPTICA</u> .....	44
1.6.3. <u>DUODENITIS</u> .....	50
1.6.4. <u>DISPEPSIA NO ULCEROSA</u> .....	51
1.6.5. <u>CARCINOMA GASTRICO</u> .....	53
1.7. <u>PATOGENIA DE H. PYLORI</u> .....	55
1.7.1. <u>POSIBLES FACTORES DE VI-</u> <u>RULENCIA DE H. PYLORI</u> .....	60
1.8. <u>DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR</u> <u>H. PYLORI</u> .....	67
1.8.1. <u>ESTUDIO HISTOLOGICO</u> .....	69
1.8.2. <u>CULTIVO</u> .....	73
1.8.3. <u>TINCION DE GRAM</u> .....	75
1.8.4. <u>ESTUDIO SEROLOGICO</u> .....	76
1.8.5. <u>PRUEBAS DE UREASA</u> .....	78
1.8.6. <u>PRUEBA DEL ALIENTO CON UREA</u> .	80
1.9. <u>TRATAMIENTO DE LA INFECCION POR</u> <u>H. PYLORI</u> .....	81

	<u>Pag.</u>
2. <u>JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DEL TRABAJO</u> ...	96
3. <u>MATERIAL Y METODOS</u> .....	99
3.1. PACIENTES .....	100
3.2. ENDOSCOPIA Y BIOPSIAS .....	100
3.3. ESTUDIO HISTOLOGICO .....	102
3.4. UREASA INMEDIATA (CLO Test) .....	104
3.5. ESTUDIO MICROBIOLOGICO .....	106
3.5.1 <u>TINCION DE GRAM E INOCULO</u> ...	106
3.5.2. CULTIVO .....	108
3.5.3. UREASA TARDIA .....	109
3.5.4. IDENTIFICACION DE LAS COLONIAS .....	110
3.5.5. <u>SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA</u> .	112
3.6. ESTUDIOS SEROLOGICOS .....	112
3.7. ANALISIS ESTADISTICO .....	117
4. <u>RESULTADOS</u> .....	119
4.1. ENDOSCOPIA .....	120



	<u>Pag.</u>
4.2. HISTOLOGIA .....	123
4.3. ENDOSCOPIA - HISTOLOGIA .....	135
4.4. UREASA INMEDIATA .....	145
4.5. MICROBIOLOGIA .....	149
4.5.1. <u>TINCION DE GRAM</u> .....	149
4.5.2. <u>CULTIVO</u> .....	153
4.5.3. UREASA TARDIA .....	157
4.5.4. <u>CARACTERISTICAS MICROBIO-</u> <u>LOGICAS DE H. PYLORI</u> .....	163
4.5.5. <u>SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA</u> .	166
4.6. DIAGNOSTICO SEROLOGICO .....	166
4.6.1. <u>INVESTIGACION DE ANTICUER-</u> <u>POS EN LOS ENFERMOS</u> .....	169
4.7. SEROEPIDEMIOLOGIA DE <u>H. PYLORI</u> EN NUESTRO MEDIO .....	175
4.7.1. <u>ANTICUERPOS EN POBLACION</u> <u>SANA</u> .....	175

4.7.2.	<u>ANTICUERPOS FRENTE A H.</u>	
	<u>PYLORI EN PERSONAL DE</u>	
	<u>GASTROENTEROLOGIA, PA-</u>	
	<u>CIENTES Y POBLACION</u>	
	<u>SANA</u> .....	181
5.	<u>DISCUSION</u> .....	187
6.	<u>CONCLUSIONES</u> .....	217
7.	<u>BIBLIOGRAFIA</u> .....	221

1. INTRODUCCION.

### 1.1. RECUERDO HISTORICO.

Las primeras observaciones de bacterias espirilares en el estómago humano y de animales se remontan a finales del siglo pasado y comienzos del actual. Bizzozzero en 1.893 y Salomon en 1.896 informaron de la presencia de bacterias espirilares en el estómago de gatos y perros.

En 1.938, Doenges detecta también microorganismos espirilares en estómagos estudiados post-mortem y en 1.940 Freedberg y Barron describen su presencia en tejido gástrico de pacientes con enfermedad ulcerosa péptica o cáncer.

Steer (1.975) recobra el interés por las bacterias del estómago y con ayuda de un microscopio electrónico, observa la presencia de microorganismos asociados a una respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica de enfermos con úlcera gástrica.

En paralelo con los primeros estudios sobre las bacterias espirilares gástricas, adquiere interés la ureasa de la mucosa gástrica.

Fitzgerald y Murphy (1.950) estudian la ureasa gástrica en estómagos resecados por enfermedad ulcerosa péptica y

sugieren que la ureasa protege a la mucosa gástrica del ácido por la neutralización de este con amonio.

Al comienzo de 1.980, Warren un patólogo y su colega Marshall, un gastroenterólogo del Royal Perth Hospital, Western Australia, observaron organismos espirilares en las biopsias gástricas, teñidas con plata, de gran cantidad de pacientes con gastritis y úlcera péptica (Warren y Marshall, 1.983; Marshal y Warren, 1.984). Posteriormente, estudian 100 pacientes con sintomatología gástrica, con el fin de identificar y definir la asociación de estas bacterias con gastritis y úlcera péptica. Con ayuda de Goodwin, microbiólogo de dicho Hospital, se realiza el cultivo de las biopsias en condiciones similares a las utilizadas para el cultivo de *Campylobacter*. Las primeras 34 muestras se incubaron durante 48 h. y los cultivos fueron negativos. Accidentalmente, por coincidir con las vacaciones de Semana Santa, las siguientes biopsias se incubaron durante 6 días, con lo que se consiguió aislar *Helicobacter pylori* (Marshall et al 1.984 b). Inicialmente a esta bacteria se le denominó "*Campylobacter-like organism*" (CLO) por su semejanza con las bacterias de este género, posteriormente, por creer que se

trataba de una nueva especie lo denominaron **Campylobacter pyloridis** (Marshall et al 1.984 b).

## 1.2. HELICOBACTER PYLORI: MICROBIOLOGIA.

### 1.2.1. TAXONOMIA.

Cuando Marshall y Warren (1.984) comunicaron los primeros aislamientos de este microorganismo en biopsias gástricas, los describieron como correspondientes a unas bacterias que morfológicamente y por su naturaleza microaerófila se parecían al resto de las especies del género **Campylobacter**; asimismo su contenido en guanina + citosina era de 35,8 a 37,1 mol% (Marshall et al 1.984 b), estando comprendido dentro de los márgenes asignados a este género por lo que se le denominó **Campylobacter pyloridis**. Esta denominación era gramaticalmente incorrecta y fue sustituido por **Campylobacter pylori** (Marshall y Goodwin, 1.987), ya que el genitivo del latín "pilorus" es "pylori" y no "pyloridis".

Sin embargo, la presencia de 4-6 flagelos en uno de los

polos de este nuevo microorganismo, que no correspondía al resto de las especies del género *Campylobacter*, así como otras diferencias en sus componentes ultraestructurales y en su composición en ácidos grasos celulares, hizo que se cuestionara pronto como microorganismo perteneciente al género *Campylobacter*.

Goodwin et al (1.986 e) comunicaron la ausencia de la 6-menaquinona metilada que es característica de los otros *Campylobacters*. Además, la sensibilidad antimicrobiana de *C. pylori* era diferente de los demás *Campylobacter* (Goodwin et al, 1.986 B). Se le pretendió incluir en el género *Spirillum* y, más tarde, en el de *Wolinella* pero las diferencias son tan importantes que no ha sido posible esta inclusión.

Goodwin, en la revista "International Journal of Systematic Bacteriology" de Octubre de 1.989, propone la creación de un nuevo género, *Helicobacter*, en el que *Campylobacter pylori* sea la especie tipo con el nombre de *Helicobacter pylori*, y a las bacterias curvadas aisladas del estómago de hurones se les denomina *Helicobacter mustelae* (Goodwin et al 1.989). El nombre del género refleja dos aspectos de la morfología de este microorganismo, helicoidal

"in vivo" pero a menudo como un bacilo "in vitro".

Alguna de las características con las que se describe a *Helicobacter pylori* son: Posee de 4 a 6 flagelos en uno de los polos. Su contenido en G+C es de 36 a 38 mol%. Crece en presencia de aire enriquecido con un 10% de CO<sub>2</sub>. No reduce los nitratos. Sensible a cefalotina (30 mcg). Se aísla de la mucosa gástrica de primates. Se encuentra en el hombre en casos de gastritis y úlcera péptica. Causa gastritis tipo B y es probable que sea un factor predisponente en la úlcera duodenal (Goodwing et al 1.989).

La cepa tipo, es la aislada en el Royal Perth Hospital con el nº 13487 (= NCTC 11637 = ATCC 43504), con un contenido G+C de 37,1 mol% (Marshall et al 1.984 b).

#### 1.2.2. MORFOLOGIA.

*H. pylori*, en la biopsia de mucosa gastroduodenal, posee una forma de espiral o en "S" que le hace fácilmente reconocible en el tejido. Se puede observar en las muestras clínicas empleando gran variedad de tinciones: Gram (The



Gastrointestinal Physiology Working Groups, 1.986), naranja de acridina (Walters et al, 1.986), hematoxilina-eoxina (La Mouliatte, 1.987), Warthin-Starry (Warren y Marshall, 1.983), Giemsa (Gray et al, 1.986), bromuro de etidio (López-Brea et al, 1.988) y técnicas inmunológicas con anticuerpos monoclonales (Engstrand, 1.986).

La morfología de *H. pylori* en el cultivo es diferente de la que se observa "in vivo". Son bacilos curvados más largos y se pueden ver formas en ojo de buey (Megraud, 1.988 a). Como le ocurre a muchas especies de *Campylobacter*, el cultivo prolongado da lugar a formas cocoides. La causa de esta transformación podrían ser condiciones desfavorables o falta de nutrientes en el medio de cultivo (Mai et al 1.989). La aparición de estas formas constituye una dificultad para el cultivo de este microorganismo.

Estudios realizados por microscopía electrónica demuestran que *H. pylori* se presenta como bacilos espirilares de 0,5-1 micras de ancho y aproximadamente 3 micras o más de largo. La pared celular externa es lisa, en contraste con la superficie rugosa de *Campylobacter jejuni*, posee flagelos múltiples en uno de los polos que terminan en un

engrosamiento en forma de bulbo. En algunas bacterias, sin embargo, y sobre todo en fases de división celular, se pueden observar la presencia de flagelos en ambos extremos de la bacteria (Goodwin et al 1.985 b; Jones et al 1.985).

El estudio de la superficie externa de *H. pylori* revela que, "in vivo" y también en cultivo puro, posee, externamente a la membrana de la pared celular, un denso gliocalix que puede estar implicado en la adherencia bacteriana (Goodwin y Armstrong, 1.990). En las biopsias gástricas se puede observar la unión entre el gliocalix bacteriano y el epitelio antral a través de los llamados pedestales de adherencia. Esta adherencia bacteriana ha sido propuesta como un factor de virulencia, en la patogenia de *H. pylori* (Bode et al 1.988).

### 1.2.3. CULTIVO.

#### Medios.

Desde que se aisló por primera vez *H. pylori* en el medio descrito para campylobacters por Skirrow (Marshall et al

1.984), se han utilizado diferentes medios para su cultivo (Tabla I).

Marshall y Warren (1.984) comprobaron la capacidad de crecimiento de *H. pylori* en placas de agar sangre suplementadas con un 5% de sangre de carnero sin inhibidores. Asimismo, comunicaron el crecimiento preferencial de *H. pylori* en placas de agar chocolate conteniendo el mismo tipo de suplemento hemático que las placas de agar sangre.

McNulty y Watson (1.984) comprobaron como *H. pylori* era incapaz de crecer en el caldo de enriquecimiento para campylobacters descrito por Preston, tanto en la inoculación primaria como en el subcultivo posterior, lo cual fué el primer hallazgo de la dificultad de este microorganismo para crecer en medios líquidos no suplementados.

Kasper y Dickgiesser (1.985) han observado la necesidad de suplementar las placas de cultivo para *H. pylori*, con algún tipo de sangre, comprobando cómo el origen de la misma no modifica sustancialmente la capacidad de crecimiento de este microorganismo. Por otro lado, también han demostrado que mientras el clásico medio de Skirrow permite el crecimiento de *H. pylori*, el medio selectivo descrito por

## T A B L A I

### Medios de cultivo para el aislamiento de H. pylori

#### NO SELECTIVOS

- Agar chocolate.
- G C agar base.
- Brucella agar base con 10% sangre de carnero.
- Trypticase soja agar con 5% sangre carnero.
- Mueller-Hinton agar con 5% sangre carnero.
- Brain-Heart infusión agar con 5% sangre carnero.
- Brain-Heart infusión agar con 7% sangre caballo y 1% Isovitalex.

#### SELECTIVOS

- Medio de Skirrow (Skirrow 1.977).
- Medio de Goodwin (Goodwin et al 1.985 a).
- Belo Horizonte Medium (Queiros et al 1.987).
- H. pylori selective medium (Dent y McNulty 1.988).

Butzler no permite el aislamiento de este microorganismo, lo que implica que *H. pylori* es sensible a alguno de los antimicrobianos utilizados por este autor para elaborar su medio selectivo para campylobacters.

En general, *H. pylori* puede crecer en la mayoría de los medios de cultivo habituales, no selectivos y adicionados con sangre (5-10%) (Megraud et al, 1.985).

En un estudio realizado por Buck y Smith (1.987) demuestran que la hemina, no es absolutamente necesaria para el crecimiento de *H. pylori*, pero sí se necesita la suplementación del medio base con almidón, suero o carbón. Estos autores sugieren que el papel de los suplementos sería el de absorber o inactivar los factores tóxicos del medio. Sólo logran un crecimiento débil en el G C agar base y Muller-Hinton sin suplementar.

Un gran número de investigadores cree que la incorporación de antibióticos al medio para suprimir las contaminaciones bacterianas resulta beneficioso para aislar *H. pylori* (Goodwin et al 1.985 a; Krajdén et al 1.987; Parsonnet et al 1.988).

Goodwin et al (1.985 a) comunica una mayor tasa de

aislamientos utilizando: Brain-Heart infusión agar base (Oxoid) conteniendo 7% de sangre de caballo, 1% de Isovitalex y como inhibidores Vancomicina 3 mg/l, ac. nalidixico 20 mg/l y anfotericina B 2 mg/l. Este medio es excelente para el aislamiento de *H. pylori* y se consigue la eliminación casi completa de los contaminantes; el empleo de estos mismos antibióticos, pero a concentraciones superiores, actúan como inhibidores del crecimiento de *H. pylori*. En este mismo trabajo se pone de manifiesto que el suplemento FBP (sulfato ferroso, metabisulfito sódico y piruvato sódico) utilizado como enriquecimiento para campylobacters resulta inhibitorio para *H. pylori*, lo cual contraindica totalmente su adición a los medios de aislamiento para este microorganismo.

Queiroz et al (1.987) han desarrollado un nuevo medio llamado "Belo Horizonte Medium" (BHM) compuesto de Brain heart infusión agar suplementado con 10% de sangre de carnero, trifenil-tetrazolio y antibióticos selectivos. En este medio las colonias de *H. pylori* toleran la concentración presente de trifenil-tetrazolio y forman unas colonias no hemolíticas pequeñas, circulares y convexas con una coloración dorada brillante. La adquisición de este color se

debe a la reducción parcial del trifenil-terazolio al complejo insoluble designado como formazan. Por tanto este medio puede utilizarse como diferencial y selectivo.

Dent y McNulty (1.988) proponen otro medio llamado "Helicobacter pylori medio selectivo" que contiene 7% de sangre de caballo, cefsulodina, vancomicina, trimetoprim y anfotericina B. Las colonias son más grandes en este medio que en el agar chocolate.

El cultivo de *H. pylori* en un medio líquido es difícil. Morgan et al (1.987) estudian el crecimiento de esta bacteria en caldo brucella suplementado con suero bovino fetal (FBS) y comprueban que se produce mayor crecimiento cuando el cultivo se realiza en agitación, afirmando que el cultivo en un medio líquido depende de una dispersión adecuada de los gases.

Muy pocos trabajos se han realizado para establecer cual de estos medios es el mejor para aislar *H. pylori*. Krajden et al (1.987) comparan la eficacia, para el aislamiento de este microorganismo, de un medio no selectivo (agar sangre con un 5% de sangre de carnero) y otro selectivo (medio de Skirrow), en dos diferentes laboratorios. En un Centro, fué mejor el

medio de Skirrow, pero en el otro las tasas de aislamiento fueron iguales en los dos medios, por lo que no queda clara la evidencia de superioridad.

Parsonnet et al (1.988) comparan la eficacia de Thayer-Martin modificado con el agar brucella conteniendo un 5% de sangre de caballo y concluyen que con el medio de Thayer-Martin se obtiene mayor rendimiento.

Dent y McNulty (1.988), también obtienen mayor porcentaje de aislamiento con su medio selectivo que con el medio de Skirrow o con el agar chocolate.

Aunque algunos autores recomiendan el uso de medios de cultivo recién preparados, el uso de placas mantenidas a temperatura ambiente en bolsas de plástico cerradas de 6 a 19 días, conduce a los mismos buenos resultados que cuando se emplean placas frescas (Goodwin et al 1.985 a).

#### Temperatura de incubación.

*H. pylori* presenta una temperatura óptima de crecimiento de 35-37° C.

Megraud et al (1.985) comprueba como sus aislamientos crecen mal a 30 y 40° C. Kasper y Dickgiesser (1.984) no



obtienen crecimiento a estas temperaturas. Sin embargo, Marshall et al (1.984 b) en sus primeros aislamientos, comunicaron un buen crecimiento a 30° C y Langenberg et al (1.986) obtuvieron resultados semejantes a 42° C. Estas diferencias son difíciles de explicar. Para Megraud et al (1.985) pueden ser debidos a que tal vez exista una diferente capacidad de crecimiento entre los aislados de distintas áreas geográficas.

#### Atmósfera de incubación.

*H. pylori* requiere una atmósfera de tipo microaerófila para su crecimiento óptimo. Debe estar compuesto por una mezcla que contenga 5% de O<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> y 85% N<sub>2</sub> y puede obtenerse por métodos de sustitución-reposición o mediante el sistema comercial Campy-Pack (BBL).

Este microorganismo es incapaz de crecer en anaerobiosis estricta o en aerobiosis total, lo cual implica el requerimiento de una atmósfera altamente reductora pero no exenta totalmente de oxígeno (Kasper y Dickgiesser 1.984; Goodwin et al 1.985 a; Megraud et al 1.985).

Goodwin et al (1.985 a) sugieren que para el aislamiento

primario de *H. pylori* se requiere una atmósfera con un 98% de humedad.

El cambio o renovación de la mezcla gaseosa microaerófila a las 24 h. parece aumentar la velocidad de crecimiento y el tamaño de las colonias (Taylor et al 1.987).

### Características de las colonias.

Debido al crecimiento relativamente lento de *H. pylori*, los cultivos deben incubarse durante 7 días. Las colonias se pueden observar en la superficie de los medios sólidos después de un período de incubación de 3-5 días. Estas presentan un tamaño de 1-2 mm de diámetro, son translúcidas y en los medios con sangre producen una débil hemólisis beta (Goodwin y Armstrong 1.990).

En las placas de agar chocolate las colonias aparecen translúcidas y grises, en ocasiones con aspecto mucoso, especialmente en la zona del inóculo (Reina y Alomar 1.989).

Langenberg et al (1.986) observan la aparición de dos tipos de colonias. Las colonias tipo 1 presentaban un diámetro de unos 3 mm y un color ligeramente amarillo a los 3 días de incubación, mientras que las colonias tipo 2, más

pequeñas, tenían un diámetro cercano a 1 mm. y un color gris translúcido. Mediante endonucleasas de restricción comprueban como los patrones de restricción del DNA de ambos tipos de colonias no muestran diferencias sustanciales, lo que permite afirmar que estos dos morfotipos representan una sola cepa dimórfica.

La tinción de la colonia muestra bacilos curvados largos, a veces se pueden ver formas en ojo de buey (Megraud et al 1.985). Cuando la tinción se realiza a cultivos viejos se observan formas cocoides no cultivables (Catrenich y Makin 1.990).

#### 1.2.4. CONTENIDO ENZIMATICO.

Una de las características más importante de *H. pylori* es su intensa capacidad para producir la enzima ureasa (Langenberg et al, 1.984). Aunque cepas ureasa negativas se pueden obtener después de múltiples subcultivos (Megraud et al, 1.985).

Taylor et al (1.988) han puesto de manifiesto que la

ureasa de *H. pylori* puede desdoblarse en dos isoenzimas, cuando se estudia en un perfil de pH, obteniéndose dos picos máximos de actividad enzimática que corresponden a valores de pH de 5 y 8. El primero de ellos sería una adaptación molecular al ambiente ácido presente en la superficie de la mucosa gástrica, y el segundo correspondería al enzima fisiológico con características taxonómicas.

La actividad ureasa de *H. pylori* es unas cien veces mayor que la de *Proteus vulgaris* (Hazell y Lee 1.986) y, para estos autores, la hidrólisis de la urea puede alcalinizar la mucosa gástrica causando una difusión retrógrada de iones  $H^+$ . Una consecuencia de esta difusión retrógrada sería la lesión de la mucosa que puede predisponer a la formación de úlceras.

Barer et al (1.988), han podido observar en cultivo de tejidos, un efecto citopático importante producido por *H. pylori* cuando se añade una alta concentración de urea al medio. Este efecto es debido al amonio producido por acción de la ureasa.

La detección de ureasa en las muestras de los pacientes colonizados por *H. pylori* se utiliza con fines diagnósticos.

*Helicobacter pylori* es oxidasa positivo y produce gran

cantidad de catalasa. Esta actividad catalasa puede reducirse e incluso perderse con repetidos subcultivos en el laboratorio. *H. pylori* también posee gran cantidad de superóxido dismutasa extracelular (Lior y Johnson, 1.985).

Además de la ureasa *H. pylori* produce otros enzimas interesantes para su identificación como son: la fosfatasa alcalina y la gammaglutamil transpeptidasa. Esta bacteria no fermenta la glucosa u otros hidratos de carbono.

#### 1.2.5. IDENTIFICACION DE H. PYLORI.

La identificación de *H. pylori* se basa en la tinción de Gram de las colonias, que muestra bacterias curvadas típicas, y la realización de una serie de pruebas bioquímicas y fisiológicas (Tabla II).

Para Goodwin y Armstrong (1.990), una identificación altamente presuntiva de *H. pylori* nos la dan pruebas bioquímicas como: catalasa, oxidasa y especialmente ureasa cuando son positivas. Además esta bacteria no reduce los nitratos y no hidroliza el hipurato.

T A B L A   I I

Características bioquímicas y fisiológicas de H. pylori

<u>Prueba</u>	<u>Resultado *</u>
Oxidasa	+
Catalasa	+
Ureasa	+
Hidrólisis del hipurato	-
Reducción de loa nitratos	-
Producción de SH <sub>2</sub> (TSI)	-
Utilización de la glucosa	-
Gammaglutamiltranspeptidasa	+
Fosfatasa alcalina	+
Crecimiento en Co <sub>2</sub>	+
Crecimiento en anaerobiosis	-
Crecimiento con 1% glicina	-
Sensibilidad a cefalotina (30 mcg)	+
Resistencia a ac. nalidíxico (30 mcg)	+

\* Goodwin y Armstrong (1.990)  
Marshall et al (1.985 c)

Buck et al (1.986) han comprobado que *H. pylori* presenta un comportamiento totalmente distinto a los campylobacters termofílicos cuando se les aplica el método de selección antibiótica (discos de cefalotina y ácido nalidixico). Así. *H. pylori* se muestra resistente a ácido nalidíxico y sensible a cefalotina, comportamiento contrario al observado en *C. jejuni* y *C. coli*.

Aunque la resistencia del ácido nalidíxico se ha descrito como una característica de este microorganismo, existen algunas cepas sensibles con bajas concentraciones de nalidíxico (Taylor et al 1.987).

#### 1.2.6. SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

*H. pylori* es muy sensible "in vitro" a gran cantidad de antimicrobianos y algunos agentes antiulcerosos (Bayerdörffer y Ottenjann 1.988) (Tabla III) pero, a pesar de esto, no se ha conseguido un tratamiento eficaz y *H. pylori* es muy difícil de erradicar "in vivo" (Graham et al 1.989 b).

Este microorganismo es sensible a la mayoría de los

antibióticos beta lactámicos, excepto a cefsulodina (McNulty et al 1.985). La sensibilidad a metronidazol se considera moderada y según estos autores, un 20% de las cepas son resistentes a este antimicrobiano. *H. pylori* es resistente a vancomicina, trimetoprim y sulfamidas.

Algunas quinolonas, al igual que eritromicina muestran excelente comportamiento "in vitro" (Simor et al, 1.989), pero ambas tienen en contra el descenso de actividad que experimentan a pH ácido. Además, en las quinolonas se describen casos de incremento progresivo de resistencias en el curso del tratamiento (Glupczynski et al 1.987).

Hay que tener en cuenta que, las formas cocoides adoptadas por *H. pylori* en cultivos viejos, pueden ser inducidas por concentraciones subinhibitorias de antimicrobianas tanto "in vitro" como después de un tratamiento no adecuado "in vivo", y se ha especulado con una mayor resistencia de estas formas a distintos antimicrobianos (López-Brea 1.989; Malfertheiner et al 1.990).

El cloranfenicol y la clindamicina presentan moderada actividad como se puede observar en la Tabla III. Lincomicina y colistina presentan actividad baja y un 40% de las cepas



**T A B L A   I I I**

**Sensibilidad de H. pylori a antibioticos y agentes anti-ulcerosos**

	<u>Rango</u>			<u>Rango</u>	
	<u>Nº de cepas</u>	<u>CM190</u>		<u>Nº de cepas</u>	<u>CM190</u>
<u>Penicilinas</u>					
Penicilina	165	0,03-0,25	<u>Nitroimidazoles</u>		
Ampicilina	147	0,03-0,24	Metronidazol	186	2,7-128
Amoxicilina	113	0,01-0,12	Tinidazol	20	4
Mezlocilina	25	0,06	<u>Nitrofuranos</u>		
<u>Cefaloporinas</u>			Furazolidona	44	2,4-12,5
Cefalotina	125	0,12-2	Nitrofurantoina	54	2,0-12,5
Cefoxitina	95	0,12-0,25	<u>Otros antibióticos</u>		
Cefotaxima	125	0,08-2	Gentamicina	165	0,16-1
Cefsulodina	50	41	Tetraciclina	125	0,12-1,2
<u>Quinolonas</u>			Clindamicina	50	2-8
Ofloxacina	77	0,5	Lincomicina	50	12,8
Ciprofloxacina	158	0,12-8	Cloranfenicol	70	4-8
Nofloxacina	43	4,8-8	Colistina	100	4-32
<u>Agentes anti ulcerosos</u>					
			Subcitrato de bismuto	90	16
			Cimetidina	75	312->500
			Ranitidina	75	>500
			Sucralfato	25	2.500

Datos tomados de Bayerdörffer y Ottenjann, 1.988

aisladas son resistentes a estas sustancias (Bayerdörffer y Ottenjan 1.988).

Las cepas con valores de  $CMI_{90} > 8$  mg/l se consideran generalmente resistentes.

Los estudios de McNulty et al (1.988) sugieren, que sólo cuando los valores de la  $CMI_{90}$  sean menores de 8 mg/l se podrán alcanzar "in vivo", concentraciones mayores aunque puedan ser alcanzadas por algunos antibióticos, no serán capaces de erradicar a *H. pylori*.

Se ha estudiado también la sensibilidad de *H. pylori* a diferentes fármacos antiulcerosos, como ranitidina, cimetidina, omeprazol, sucralfato y sales de bismuto, principalmente subcitrato y subsalicilato (Goodwin et al 1.986 b; Andreasen 1.987).

Las sales de bismuto presentan un rango de CMI de 4-32 mg/l (McNulty et al 1.985) y estas concentraciones se alcanzan localmente en la mucosa gástrica (Lambert et al 1.988), por lo que son activas frente a *H. pylori*. No le ocurre lo mismo al resto de las sustancias antiulcerosas cuyos valores de CMI son tan altos que no tienen ninguna acción antimicrobiana.

Solamente los agentes antiulcerosos con capacidad para inhibir la bomba de protones, omeprazol y un nuevo derivado, el lanzoprazol, muestran actividad "in vitro" frente a *H. pylori* (Iwahi et al 1.991). Lanzoprazol es cuatro veces más activo que el omeprazol, y su actividad "in vitro" (rango CMI de 3,13-12,3 mcg/ml) es comparable a la de las sales de bismuto.

Iwahi et al (1.991) ha comunicado que una dosis oral de lanzoprazol puede actuar, local y sistémicamente, frente a *H. pylori* en la mucosa gástrica de pacientes con patología gastroduodenal.

Los estudios existentes (McNulty et al 1.986) indican que el fármaco de elección debe cumplir al menos los siguientes requisitos:

- Buena actividad preferentemente bactericida frente a *H. pylori*.
- Estabilidad a pH ácido.
- Administración preferentemente oral.
- Buena penetración en el moco gástrico.
- Sinergismo con otros fármacos que se han mostrado

útiles, como las sales de bismuto.

Parece ser que este nuevo inhibidor de la bomba de protones, el lanzoprazol, cumple casi todos estos criterios (Iwahi et al 1.991) por lo que estos compuestos pueden ser muy útiles en el tratamiento de la patología gastroduodenal asociada a *H. pylori*.

Al no haber encontrado el antimicrobiano ideal que erradique el 100% de los microorganismos que se asocian a la patología gástrica, son necesarios nuevos estudios tanto "in vitro" como "in vivo", para llegar a establecer pautas de tratamiento eficaces a largo plazo.

### 1.3. RESPUESTA INMUNE.

#### RESPUESTA INMUNE LOCAL.

La presencia de una respuesta inmune local frente a *H. pylori*, ha sido puesta de manifiesto por Rathbone et al (1.986 b). Estos autores detectan IgA y, en menor cantidad,

IgM en el jugo gástrico de pacientes con gastritis por *H. pylori*.

Wyatt y Rathbone (1.988), estudian "in vitro" la producción local de inmunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) por las células plasmáticas de la mucosa y observan que existe una relación cuantitativa entre los anticuerpos anti-*H. pylori* producidos y la densidad de células plasmáticas en la mucosa. Además la presencia de neutrófilos, en la gastritis crónica activa, se asocia con la presencia de IgG e IgM recubriendo a *H. pylori* en la superficie mucosa, por lo que estos anticuerpos pueden ejercer un efecto opsonizante y facilitar la fagocitosis por los neutrófilos.

Según estos estudios la respuesta más importante, a nivel local, es la IgA aunque su papel no esté claro ya que su presencia no elimina la colonización. Sin embargo, la existencia de IgG e IgM recubriendo a las bacterias se asocia con actividad de la gastritis y no se observa en ausencia de infiltrado neutrófilo.

### RESPUESTA INMUNE SISTEMICA.

Son muchos los estudios serológicos que han puesto de manifiesto la presencia de anticuerpos, frente a *H. pylori*, en los pacientes colonizados por esta bacteria (Jones et al 1.984; Kaldor et al 1.985; Pérez-Pérez et al 1.988).

Uno de los primeros trabajos, acerca de esta respuesta serológica, fué realizado por Eldridge et al, (1.984) en un grupo de pacientes con gastritis. Estos detectan la presencia de anticuerpos en el 90% de los pacientes con patología gástrica.

### TECNICAS SEROLÓGICAS

Para estudiar la respuesta inmune frente a *H. pylori*, se han empleado la mayoría de las técnicas serológicas conocidas: hemaglutinación (Marshall et al 1.984 a), fijación de complemento (Jones et al 1.984), inmunofluorescencia (Reina y Alomar, 1.989), aglutinación por latex (Westblom et al, 1.990), ELISA (Kaldor et al 1.985; Talley et al, 1.990)

y Western-blot (Nilius et al 1.990).

El ELISA es la técnica de elección, en la mayoría de los casos, porque es rápida, sencilla y reproducible, pero su sensibilidad y especificidad dependen del tipo de antígeno utilizado.

### ANTIGENOS

El antígeno ideal debería ser: específico, muy inmunógeno, fácil de preparar y estable (Newell y Stacey, 1.989).

SE han utilizado varios tipos de antígenos: células completas (Rathbone et al 1.986 b; Cohen et al 1.989), células sonicadas (Jones et al, 1.986), antígeno extraído con tampón de glicina (Goodwin et al 1.987) y una proteína de *H. pylori* como es la ureasa (Dent et al, 1.988).

Los antígenos formados por células completas sonicadas, presentan una buena sensibilidad pero escasa especificidad ya que su amplia variedad de componentes antigénicos, aunque muy inmunógenos, pueden dar reacciones cruzadas con otras

bacterias como *C. jejuni* (Newall, 1.987).

Parece ser que el antígeno extraído con tampón glicina, mejora la sensibilidad y especificidad cuando se utiliza en el ELISA (Newell y Stacey, 1.989).

Con el uso de un antígeno único se obtiene una alta especificidad pero la sensibilidad es menor que cuando se utiliza un antígeno múltiple (Newell y Stacey, 1.989).

#### INMUNOGLOBULINAS

La respuesta inmunológica que se produce en la infección por *H. pylori*, corresponde a una infección crónica de la mucosa. Los anticuerpos predominantes son de la clase IgG y, en menor grado, IgA. En muy pocos casos se detecta IgM (Jones et al 1.986; Steer et al 1.987).

Rathbone et al (1.986 b) estudian la respuesta inmune a *H. pylori* en 39 pacientes con dispepsia no ulcerosa y observan un aumento significativo en los títulos de IgG e IgA de los 20 pacientes con *H. pylori* positivo. Los títulos de IgM fueron similares en los pacientes histológicamente



positivos o negativos para esta bacteria.

Pérez-Pérez et al (1.988) tampoco detectan IgM, pero sugieren que es posible que se deba a que la obtención de la muestra se ha realizado tarde. Sin embargo, en un estudio realizado en Dinamarca por Leif Percival (1.990), se pone de manifiesto la presencia de anticuerpos IgG, IgA e IgM en un grupo de 125 niños, pero mientras los IgG e IgA permanecen constantes a lo largo de toda la vida, los IgM disminuyen.

Parece ser que la respuesta serológica a la infección por *H. pylori* es lenta. Morris y Nicholson (1.987) comunican que, tras la ingesta de *H. pylori* por un voluntario, la seroconversión para la IgG ocurrió entre el 22 y 33 día después de la infección. Sin embargo, no se observó respuesta IgM e IgA. Este hecho ha sido observado también por Frommer et al (1.988) en un paciente con infección aguda por *H. pylori*.

La tasa de anticuerpos, tanto en enfermos como en población sana, se incrementa con la edad (Pérez-Pérez et al 1.988; Kosunen et al 1.989; Loffeld et al 1.990 a), existiendo variaciones en relación al nivel socioeconómico, raza y localización geográfica (Pérez-Pérez et al 1.990;

Megraud et al 1.989; Gastrointestinal Physiology Working Group 1.990).

#### 1.4. MODELOS ANIMALES.

Varios animales se han utilizado para intentar reproducir la infección que *H. pylori* produce en el hombre, entre ellos se encuentran: cerdos gnotobióticos, monos, hurones, perros y gatos. Sin embargo, el desarrollo de un modelo animal no ha resultado fácil. Se ha informado sobre la existencia de un organismo idéntico a la cepa humana en el mono rhesus y algunos investigadores lo han propuesto como posible modelo (Barskeville et al 1.988).

Actualmente los cerdos gnotobióticos son los que prometen mejores resultados.

La administración de *H. pylori* a este animal produjo una colonización de la mucosa gástrica con cambios inflamatorios semejantes a los que ocurren en el hombre. También se pudo observar seroconversión después de la infección (Krakowka et al 1.987; Lambert et al 1.987). Estos modelos animales son

demasiado caros para su empleo a gran escala.

## 1.5. EPIDEMIOLOGIA DE LA INFECCION POR H. PYLORI.

### 1.5.1. PREVALENCIA DE LA INFECCION

Desde que se realizó el primer aislamiento de *H. pylori* en Australia, éstos se han ido repitiendo en todo el mundo (Goodwin et al 1.985 a; Jones et al 1.984; Buck et al 1986; Satti et al 1.990; Kang et al 1.990), por lo que no hay duda que *H. pylori* presenta una distribución cosmopolita.

Aunque la mayoría de los estudios se han realizado en enfermos con sintomatología gástrica, en los que estaba indicada la gastroscopia, la presencia de *H. pylori* también se ha investigado en personas asintomáticas.

Algunas de las conclusiones que se pueden extraer de estos trabajos son:

1. *H. pylori* se aísla frecuentemente en personas asintomáticas (Barthel et al 1.988; Dooley et al

- 1.988).
2. Tanto en la población sintomática como asintomática la presencia de este microorganismo se asocia con gastritis (Pettron et al 1.988).
  3. En países desarrollados, la infección por *H. pylori* es infrecuente en niños, pero se incrementa con la edad (Dooley et al 1.988; Pérez-Pérez et al 1.988). Estos resultados son paralelos a los que se han descrito para la gastritis crónica (Siurala et al 1.968; Kekki et al 1.977).

Kosunen et al (1.989), estudian la tasa de anticuerpos, frente a *H. pylori*, en donantes de sangre y obtienen valores que van de un 10% para las personas de 18-25 años, hasta un 60% para las de 56-65 años.

En los países en desarrollo, la infección por *H. pylori* es frecuente y está muy extendida, existiendo variaciones en relación al nivel socioeconómico, raza y localización geográfica. No se encuentran diferencias, en la tasa de infección, en relación al sexo (Pérez-Pérez et al 1.990; The Gastrointestinal Physiology Working Group, 1.990; Graham et al 1.988 b).

No se conoce bien la historia natural de la infección por *H. pylori*, pero estudios en voluntarios así como los resultados del tratamiento y serología, sugieren que una vez que se adquiere la infección, persiste durante años y posiblemente toda la vida (Coghlan et al 1.987; Morris y Nicholson 1.987).

#### 1.5.2. FUENTES Y MECANISMOS DE TRANSMISION

Se desconoce, en la mayoría de los casos, cual es la fuente y mecanismo de transmisión de *H. pylori*.

Hasta ahora sólo se ha descrito el aislamiento de *H. pylori* en dos clases de animales: cerdos (Jones y Curry, 1.988) y monos (Barskeville y Newell, 1.988).

La exposición humana a los monos no es tan frecuente que explique la alta prevalencia de esta infección en el hombre.

Se ha sugerido que el cerdo podría transmitir a *H. pylori* a través de su carne y derivados, pero hasta ahora no hay evidencia que mantenga esta hipótesis ya que existe una alta prevalencia de infección en poblaciones musulmanas

(Megraud et al 1.989).

El único gran reservorio del que se ha aislado *H. pylori* es el estómago humano, en la mucosa gástrica. También se ha podido cultivar en la mucosa duodenal, en asociación con metaplasia gástrica. Sin embargo, no se ha detectado en boca, intestino delgado, colon, recto, sangre y tracto genito-urinario (Kasper, 1.988). La existencia de este gran reservorio apoyaría la transmisión intrapersonal.

El primer estudio que ponía de manifiesto esta posible vía de infección fué el publicado por Ramsey et al (1.979), en el que un electrodo, no estéril, causó gastritis en 17 de los 37 estudiantes participantes. Posteriormente se demostró la presencia de *H. pylori* en los 17 pacientes.

Otros autores han confirmado esta transmisión indirecta, persona a persona, principalmente vía endoscópica (Gullini et al 1.988; Hunt et al 1.985).

La hipótesis de la transmisión interpersonal se ve apoyada por los estudios realizados por Lambert et al (1.990 b) en una institución para disminuídos físicos y mentales. La prevalencia de anticuerpos es más alta en las personas de la institución que en la población general, y aumenta en rela-

ción a los años de permanencia en el Centro. Este tipo de transmisión se ha sugerido también para explicar la incidencia elevada de anticuerpos en familiares de niños infectados (Mitchell et al 1.987; Drumm et al 1.989).

Rawles et al (1.987) usando como método diagnóstico la serología, hallan una frecuencia de anticuerpos anti-*H. pylori*, de tres a cuatro veces superior a la normal en el personal sanitario de una Unidad de Endoscopia, y sugieren que la manipulación de secreciones del tracto digestivo puede desempeñar un papel en la transmisión de *H. pylori*.

La posibilidad de que la infección por *H. pylori* sea una zoonosis, también se ha investigado. Vaira et al (1.988 e) encuentra tasas más altas de anticuerpos entre los trabajadores de un matadero que están en contacto directo con los animales que en aquellos que no lo están. No obstante, son necesarios mayor número de estudios para confirmar este mecanismo de transmisión.

## 1.6. HELICOBACTER PYLORI Y PATOLOGIA GASTRODUODENAL.

### 1.6.1. GASTRITIS

Existe una estrecha asociación entre *H. pylori* y gastritis. Blaser (1.987), hace una recopilación de la literatura y en un total de 17 estudios con 1.136 pacientes adultos sintomáticos, 778 tenían gastritis y de ellos el 75,5% presentaban *H. pylori*, mientras que en 359, sin gastritis, sólo el 9,7% tenían *H. pylori* (Tabla IV).

Esta asociación también se observa en personas asintomáticas y en la recopilación de 3 estudios que presenta este autor, el 100% de los individuos con gastritis se detectó *H. pylori*.

*H. pylori* no se asocia con la gastritis inducida por fármacos (Gustavsson et al 1.984) y se encuentra en muy pocos casos en mucosa normal (Burnett et al 1.984) o en presencia de gastritis autoinmune, tipo A (O'Connor et al 1.984).

En pacientes con gastritis por reflujo alcalino, la presencia de *H. pylori* es rara (O'Connor et al 1.986 a). Parece ser que este reflujo puede alterar el moco gástrico y



T A B L A IV

Asociación de Gastritis con presencia  
de H. pylori en adultos

	Pacientes con gastritis		Pacientes sin gastritis	
	Nº	% HP+	Nº	% HP+
<b>PACIENTES SINTOMATICOS</b>				
Once estudios	523	76,9	191	9,4
Cinco estudios	169	72,2	35	5,7
Un estudio	86	70,9	133	11,3
TOTAL (17 estudios)	778	75,2	359	9,7
<b>PACIENTES ASINTOMATICOS</b>				
Tres estudios	11	100	43	0

Datos tomados de : Blaser MJ (1.987)

causar la eliminación de *H. pylori* que reside en esta capa de la barrera mucosa.

Otros hechos ponen de manifiesto su implicación como causa de gastritis:

- La presencia tanto en suero como a nivel local de anticuerpos específicos anti-*H. pylori* (Goodwin et al 1.987; Rathbone et al 1.986 b).
- El tratamiento de la gastritis con antibióticos y sales de bismuto, sustancias activas frente a *H. pylori*, da lugar a una erradicación del microorganismo, con mejoría o resolución de la inflamación (Marshall et al 1.987 a; McNulty, 1.989).
- La mejor evidencia de que *H. pylori* causa gastritis, es la obtenida a través de estudios realizados en voluntarios (Marshall et al 1.985 b; Morris et al 1.987).

Ambos autores ingirieron cultivos puros de *H. pylori*, tras comprobar mediante endoscopia y biopsia que su mucosa gátrica era normal, y desarrollaron una gastritis aguda.

En el caso de Morris, la gastritis se convirtió en crónica, persistiendo, aunque levemente, tras la erradicación del germen.

#### CARACTERISTICAS DE LA GASTRITIS ASOCIADA CON H. PYLORI.

Aunque se han usado gran variedad de términos y clasificaciones para definir lo que significa gastritis en el contexto de la infección de la mucosa gástrica por *H. pylori*, la mayoría de los investigadores están de acuerdo en que la inflamación gástrica, característicamente asociada con *H. pylori*, es la llamada gastritis crónica tipo B (Blaser, 1.988).

La gastritis crónica se considera un proceso inflamatorio, no específico, de causa multifactorial. Existe una clasificación patogenética que divide a la gastritis crónica en dos variedades: tipo A y tipo B. El tipo A afecta principalmente al cuerpo del estómago, con destrucción de las células parietales. Este tipo parece ser una enfermedad autoinmune y se encuentra frecuentemente en pacientes con

anemia perniciosa. La gastritis crónica tipo B afecta principalmente al antro, aunque puede extenderse también al cuerpo del estómago, con destrucción de las células secretoras de moco.

En los dos tipos de gastritis crónica las células que se encuentran en las secciones histológicas del tejido afectado, son células mononucleares (Buck, 1.990).

La nueva clasificación de la gastritis, conocida como "Sistema Sydney" (Misiewicz, 1.990), reconoce sólo tres formas de gastritis: la aguda, en la que los granulocitos neutrófilos son las células dominantes, la crónica, con células inflamatorias crónicas (mononucleares) predominantemente, y las formas especiales en las que se incluyen las gastritis asociadas a antiinflamatorios no esteroideos (AINES).

La inflamación, actividad (cantidad de leucocitos polimorfonucleares), atrofia y presencia de bacterias espirilares se pueden graduar como: ninguna, media, moderada o severa.

En esta clasificación la gastritis conocida previamente como tipo B se denomina "gastritis crónica asociada a H.

*pylori*" que puede presentar actividad o no.

En la clasificación de Whitehead, que se ha utilizado en muchos estudios, se introduce un sistema de subclasificación de la gastritis crónica (Whitehead et al 1.972).

Cuando los leucocitos polimorfonucleares están presentes en las secciones de tejido además de las células mononucleares, la gastritis se denomina gastritis crónica activa.

Mientras en la gastritis asociada a *H. pylori* siempre está presente un infiltrado inflamatorio de la mucosa formado por células mononucleares, la presencia de leucocitos polimorfonucleares, acompañando al infiltrado mononuclear, es variable.

En algunos estudios (Jones et al 1.984; Price et al 1.985) *H. pylori* se aísla con la misma frecuencia en presencia de gastritis crónica o de gastritis crónica activa, mientras que en otros (McNulty et al 1.984; Von Wulffen et al 1.986) se asocia con gastritis crónica activa, o sea con la presencia de neutrófilos en la muestra.

Hazell et al (1.987) explican estos diferentes resultados diciendo que debido a una distribución salteada de

la lesión, puede ocurrir que los neutrófilos no se encuentren en el lugar de detección del microorganismo.

Goodwin et al (1.987) sugieren que tal vez estas diferencias sean debidas a que el rango que tienen algunos autores para afirmar que presentan neutrófilos, es demasiado alto.

Por todo esto, Blaser y Brown (1.989) prefieren llamar a la gastritis asociada con *H. pylori* "Gastritis crónica".

#### 1.6.2. ULCERA PEPTICA

La asociación entre *H. pylori* y úlcera péptica ya fué descrita en uno de los primeros trabajos de Marshall y Warren (1.984). Estos investigadores encuentran a este microorganismo en el 100% de los pacientes con úlcera duodenal y el 77% de los pacientes con úlcera gástrica. Similares resultados han sido observados por otros autores (Tabla V).

En general se encuentra una asociación más baja con la úlcera gástrica que con la úlcera duodenal. Sin embargo,

existen opiniones discrepantes. Para O'Connor et al (1.986 b) la úlcera gástrica en pacientes sin *H. pylori* puede ser debida al reflujo de bilis y ácido, ya que la gastritis por reflujo no se asocia con esta bacteria. Para otros, la mayor parte de las úlceras gástricas no asociadas con *H. pylori* tienen relación con la toma de antiinflamatorios no esteroideos (AINES).

Rauws et al (1.988) comunica que con la exclusión cuidadosa de otras causas de úlcera gástrica, como es el uso de analgésicos, la prevalencia de *H. pylori* en pacientes con úlcera gástrica se aproxima al 100%.

La gastritis antral crónica ocurre en aproximadamente el 100% de pacientes con úlcera péptica (Schrager et al 1.967; Hui et al 1.986) y permanece después del tratamiento convencional con inhibidores de los receptores  $H_2$  (McKenna et al 1.987).

Por otro lado, se conoce la estrecha asociación entre gastritis crónica y *H. pylori*, por lo que es lógico pensar en la existencia de una relación entre ambos hechos y *H. pylori* sería el agente etiológico de la gastritis crónica asociada con la úlcera péptica.

T A B L A V

H. pylori y enfermedad ulcerosa péptica

Estudios	<u>Úlcera gástrica</u>		<u>Úlcera duodenal</u>	
	Nº	% HP+	Nº	% HP+
Price et al (1.985)	7	57	21	81
Booth et al (1.986)	21	57	32	78
Goodwin et al (1.987)	20	100	61	100
Blanco et al (1.987)	27	74	17	88
Tytgat et al (1.988 a)	61	97	89	100
Kang et al (1.990)	195	66	422	86



Esta afirmación se puede ver apoyada por los estudios que muestran la completa resolución de la gastritis después de la erradicación del microorganismo (Mckenna et al 1.987; McNulty et al 1.986).

A pesar de esta asociación entre *H. pylori*, gastritis y úlcera péptica, no hay demasiados datos que confirmen el papel etiológico de esta bacteria en la patogénesis de la úlcera péptica.

La presencia de metaplasia gástrica en el duodeno, parece ser un dato importante a tener en cuenta para aceptar el papel patógeno de *H. pylori* en la úlcera duodenal.

*H. pylori*, en raras ocasiones, se aísla de mucosa duodenal normal, ya que sólo coloniza áreas con metaplasia gástrica (Johnston et al 1.986 Wyatt et al 1.987 b). Por otro lado, la metaplasia gástrica es frecuente en la mucosa duodenal de pacientes con úlcera duodenal y se asocia con la existencia de niveles elevados de ácido (Johansen y Hansen, 1.973; Rhodes, 1.964).

Wyatt (1.989) ha sugerido que la anormal secreción de ácido induce metaplasia gástrica en el duodeno y así la bacteria puede moverse de su habitat natural en el antro

gástrico al duodeno, originando duodenitis que, bien sólo o asociada a otros factores, conduce a la úlcera duodenal.

La mayor evidencia de que *H. pylori* está involucrado en la patogénesis de la úlcera péptica, proviene de los estudios realizados con distintos tratamientos.

Humphreys et al (1.988) muestra que la curación de las úlceras con subcitrato de bismuto se correlaciona con la eliminación de *H. pylori*.

Coghlan et al (1.987) tratan a 66 pacientes, con úlcera duodenal, con subcitrato de bismuto o cimetidina y hace el seguimiento de los 44 pacientes en los que hubo curación de la úlcera. La recidiva fué mayor en los pacientes cuyos cultivos seguían siendo positivos para *H. pylori* que en los pacientes que eran negativos. Además, ningún paciente que permaneció negativo para el microorganismo presentó gastritis, pero sí la desarrollaron todos los que tuvieron una recidiva de la bacteria.

Estos hallazgos sugieren que *H. pylori* puede desempeñar un papel importante en la recidiva de la úlcera.

Marshall et al (1.988) realizan un estudio en 100 pacientes con úlcera duodenal e infección por *H. pylori*, con

el fin de comprobar si la erradicación de este microorganismo influye en la cicatrización de las células o en su recidiva.

Los pacientes fueron tratados durante 8 semanas con cimetidina más placebo o tinidazol y subcitrate de bismuto más placebo o tinidazol.

*H. pylori* persistió en todos los pacientes del grupo cimetidina/placebo y en el 95% de pacientes del grupo cimetidina/tinidazol. Se erradicó en el 27% del grupo subcitrate de bismuto/placebo y el en 70% del grupo subcitrate de bismuto/tinidazol.

En los casos que persistió *H. pylori*, el 61% de las úlceras duodenales cicatrizó y el 84% recidivó.

En caso de erradicación de *H. pylori*, cicatrizó el 92% de las úlceras y sólo recidivó el 21% durante el período de seguimiento de 12 meses.

Para estos autores, *H. pylori* es el factor etiológico más importante descrito hasta la fecha en la úlcera duodenal.

Los datos disponibles sugieren que *H. pylori* está involucrado, de alguna forma, en el desarrollo de la úlcera pero no es el único factor. Si el proceso de la ulcerogénesis es una secuencia de escalones, que conducen a un final con

destrucción del tejido, la infección por este microorganismo puede ser uno de los escalones. Mientras que el tratamiento convencional de la úlcera, como son los antagonistas H<sub>2</sub> o vagotomía, puede afectar la historia natural del proceso, estos tratamientos tienen poco o ningún efecto sobre la presencia del organismo. Sin embargo, el tratamiento de *H. pylori* puede modificar tal evolución en un primer escalón o simplemente eliminar un factor adicional que favorece el desarrollo de la úlcera (Buck, 1.990).

### 1.6.3. DUODENITIS

La presencia de *H. pylori* sobre tejido metaplásico gástrico, se asocia invariablemente con una respuesta de leucocitos polimorfonucleares, duodenitis (Wyatt et al, 1.987 b; Johnston et al, 1.988).

Wyatt et al (1.987 b) informan que en el 88% de los pacientes con duodenitis activa se encuentra gastritis asociada a *H. pylori* y metaplasia gástrica; sin embargo,

estos dos hechos sólo coexisten en 0,43% de los pacientes sin inflamación duodenal.

Johnston et al (1.988) estudian 150 biopsias de pacientes diagnosticados histológicamente como: normal, duodenitis no específica, duodenitis activa y úlcera duodenal. *H. pylori* nunca se encuentra en duodeno normal o con duodenitis no específica, pero fué identificado en el 96% y 100% de los casos de duodenitis activa y úlcera duodenal respectivamente. Estos datos sugieren la asociación de metaplasia gástrica, duodenitis activa o úlcera duodenal y *H. pylori*.

Para algunos autores, la duodenitis representaría una gastritis de tipo antral, en individuos genéticamente susceptibles, cuya unión gastrointestinal no se situara en el píloro, sino en el bulbo duodenal (Marshall et al 1.985 b; Marshall, 1987).

#### 1.6.4. DISPEPSIA NO ULCEROSA.

Constituye una entidad de difícil definición, por lo que

significativas en la mejoría de los síntomas entre los pacientes en los que se erradicó *H. pylori* y los que no se eliminó. Lo mismo ocurre en el estudio realizado por Patchett et al (1.990).

Sin embargo, los datos obtenidos por Vaira et al (1.990), indican que el tratamiento con subsalicitato de bismuto, no sólo erradica a *H. pylori* de la mucosa antral, sino que esta eliminación se asocia con una mejoría histológica de las gastritis y de los síntomas subjetivos.

A estos resultado se llega con el estudio de Lamouliatte et al (1.990 b). Cuando la tasa de eliminación de *H. pylori* es del 75-90%, existe una mejoría significativa de los síntomas.

Como se puede apreciar, las conclusiones sobre el papel de *H. pylori* en la dispepsia no ulcerosa, son contradictorias y son necesarios más estudios para poder definir esta asociación.

#### 1.6.5. CARCINOMA GASTRICO.

Antes del aislamiento de *H. pylori*, ya se había descrito

la asociación de organismos espirilares con el carcinoma gástrico (Freedberg y Bairon, 1.940). Posteriormente Marshall et al (1.985 e), estudian tejido e 5 pacientes con úlcera gástrica maligna y detectan *H. pylori* en cuatro. Sin embargo Rollason et al (1.984) no encuentran asociación de este microorganismo con el carcinoma gástrico.

En el III WORKSHOP OF THE EUROPEAN *HELICOBACTER PYLORI* STUDY GROUP, celebrado en Toledo en Noviembre de 1.990, este tema recibió gran atención, y aunque la mayoría de los trabajos presentados muestran una asociación entre *H. pylori* y carcinoma gástrico, (Loffeld et al 1.990 b; Boixeda et al 1.990; Avellini et al 1.990; Crespo et al 1.990), todos ellos concluyen que son necesarios más estudios para conocer el significado de estos resultados.

*H. pylori* no se aísla del tejido neoplásico sino del tejido que le rodea. Para Avellini et al (1.990), este hecho podría sugerir que *H. pylori* tiene algo que ver con la primera fase del desarrollo del tumor.

### 1.7. PATOGENIA DE H. PYLORI.

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la estrecha asociación de *H. pylori* con la gastritis crónica tipo B y úlcera péptica (Buck et al 1.986; Niemela et al 1.987; Rauws et al 1.988; Kang et al 1.990). Pero si *H. pylori* debe ser considerado como un patógeno primario o sólo un microorganismo que coloniza la mucosa dañada, es todavía materia de discusión.

Numerosos argumentos se han ido acumulando en los últimos años que indican un importante, si no decisivo, papel de *H. pylori* en la etiología de la gastritis y úlcera péptica.

Las principales pruebas que implican a *H. pylori* en la patogénesis de la gastritis son:

1. Capacidad para producir infección en voluntarios humanos (Marshall et al 1.985 b; Morris et al 1.987) con cambios inflamatorios crónicos de la mucosa gástrica y obtención de una respuesta serológica.
2. Capacidad de inducir infección experimental en



animales. La administración oral de un cultivo de *H. pylori* a cerdos gnotobióticos da lugar a una gastritis crónica similar a la que se produce en el hombre (Lambert et al 1.987).

3. Reducción de la actividad inflamatoria de la mucosa gástrica y curación de las lesiones y síntomas gastroduodenales, después de un tratamiento antimicrobiano de eliminación de *H. pylori* (Glupczynski et al 1.988).

Otras pruebas menos directas que mantienen la hipótesis de que *H. pylori* juega un papel en la patogenia de la gastritis, se pueden resumir:

1. Adhesión de *H. pylori* a una diana específica. *H. pylori* sólo coloniza epitelio gástrico, ya que en el estómago no se aísla de áreas con metaplasia intestinal y en el duodeno se encuentra principalmente en áreas con metaplasia gástrica (Wyatt et al 1.987 b; Johnston et al 1.988).
2. Su asociación específica con cierto tipo de inflamación la conocida como gastritis tipo B. No se

asocia con gastritis autoinmune tipo A, con la gastritis por reflujo o la gastritis secundaria a medicación (Blaser y Brown, 1.989).

3. Capacidad para inducir respuesta inmune local y sistémica (Pérez-Pérez, 1.988). Estos anticuerpos específicos anti-*H. pylori*, disminuyen con el tratamiento y la recaída conduce a una elevación de los mismos (Vaira et al, 1.988 a).
4. El tratamiento con sales de bismuto conduce a una marcada mejoría de la gastritis histológica (Rauws et al 1.988). Sin embargo, debido al efecto múltiple que tienen las sales de bismuto, incluyendo la acción citoprotectora además de la acción antimicrobiana, estas sustancias no son las más adecuadas para estudiar la patogenicidad de *H. pylori*.
5. *H. pylori* se asocia con la gastritis epidémica e hipoclorhidria (Peterson et al, 1.987).

Como ya se ha comentado anteriormente, la asociación entre infección por *H. pylori* en antro gástrico y presencia

de úlcera duodenal, es incluso más alta que en el caso de la gastritis (Rauws et al 1.988). Pero no existe una evidencia clara de que *H. pylori* cause úlcera duodenal. La mayor prueba de patogenicidad procede de los estudios realizados con diferentes tratamientos, los cuales muestran que la erradicación de *H. pylori* se asocia con una prolongada remisión en la recaída de las úlceras (Goghlan et al 1.987; Marshall et al 1.988).

Existe una estrecha asociación entre metaplasia en el duodeno, gastritis antral asociada a *H. pylori* y duodenitis activa o úlcera duodenal.

Una hipótesis que puede explicar esta observación se expone en la Figura 1.

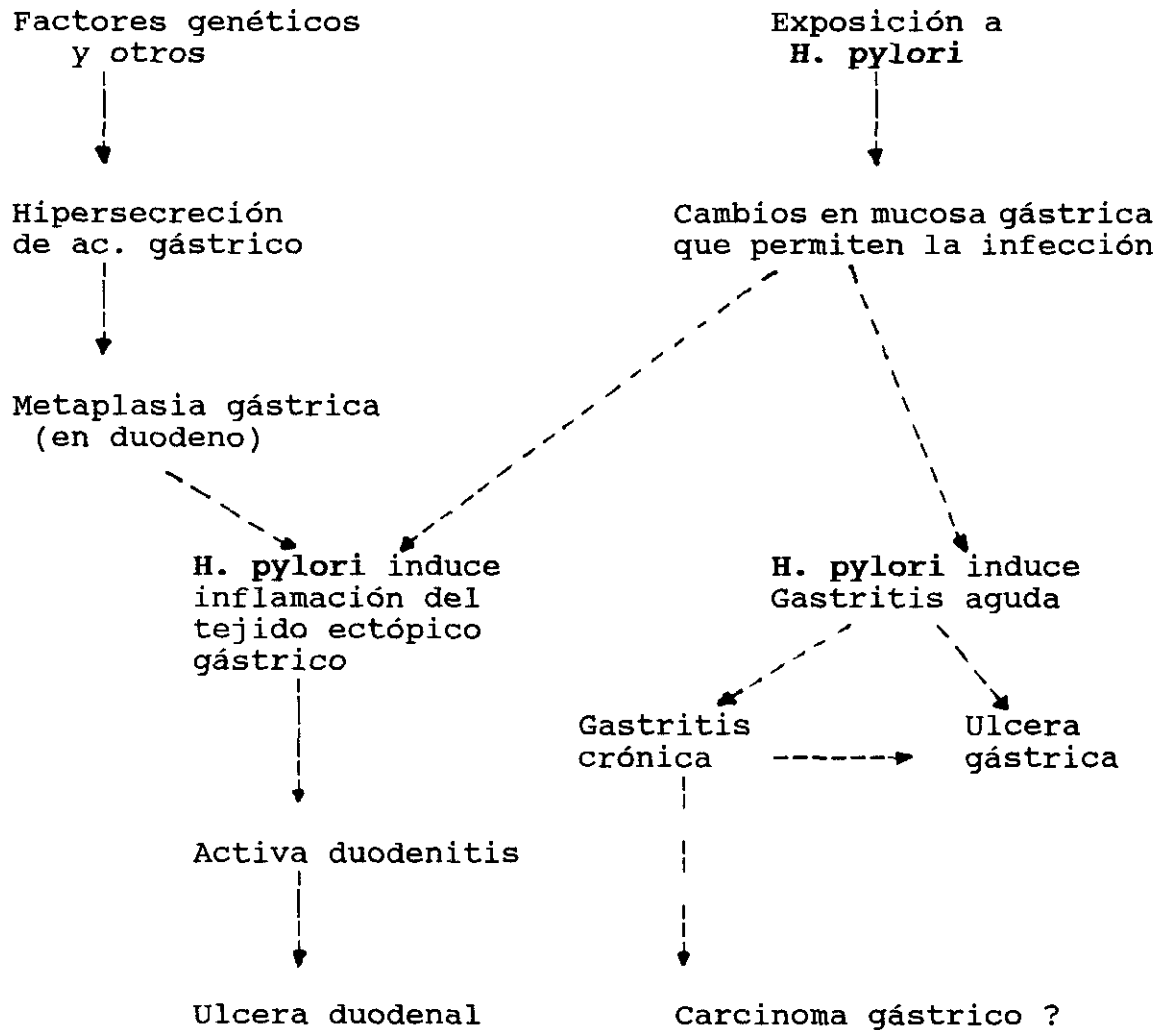


Figura 1: Mecanismo hipotético del papel de *H. pylori* en la patogénesis de la úlcera duodenal y gástrica. Tomado de Blaser (1.990).

La hipersecreción de ácido gástrico puede originar metaplasia gástrica en el duodeno (Rhodes, 1.964). Este tejido gástrico ectópico es un lugar adecuado para la colonización por *H. pylori*. Si *H. pylori* causa inflamación del epitelio gástrico cuando se localiza en el estómago, también puede causar daño en el tejido ectópico del duodeno.

Esta hipótesis está apoyada por estudios histológicos que muestran en las lesiones leucocitos polimorfonucleares (duodenitis activa), que se asocia con metaplasia gástrica e infección por *H. pylori* (Wyatt, 1.987; Johnston, 1.988).

La duodenitis activa es considerada generalmente como la lesión precursora de la úlcera duodenal.

La gastritis antral, asociada a *H. pylori*, también está estrechamente asociada con la úlcera gástrica (Niemela et al, 1.987).

#### 1.7.1. POSIBLES FACTORES DE VIRULENCIA DE *H. PYLORI*.

Aunque la evidencia acumulada sugiere que *H. pylori* juega un papel importante en la patología gastroduodenal, no

se conoce el mecanismo exacto por el que lesiona la mucosa gástrica.

Diferentes propiedades de *H. pylori* se han identificado como posibles factores de virulencia, entre los que se incluyen: la producción de ureasa, su intensa movilidad en un medio viscoso como es el moco gástrico, la producción de toxinas y su adherencia a células epiteliales.

#### UREASA DE H. PYLORI.

Davenport (1.965) observó que determinados agentes agresivos de la mucosa gástrica alteran la permeabilidad de la capa epitelial, permitiendo la difusión retrógrada de iones  $H^+$ , por lo que supuso que la hipoclorhidria de los pacientes con úlceras gástricas crónicas era el resultado de una difusión retrógrada aumentada de  $H^+$ .

Hazell y Lee (1.986) proponen que la actividad ureasa de *H. pylori*, puede constituir uno de los factores básicos que determinana esta retrodifusión y la consiguiente lesión de la mucosa que en los casos extremos determina la inducción

de una úlcera gástrica. En condiciones normales existe un gradiente de iones  $\text{Na}^+$  entre la luz gástrica y la superficie epitelial. El mantenimiento del mismo se produce gracias a una bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  - ATPasa que determina la salida de los iones  $\text{H}^+$  a la luz gástrica, evitando de este modo la retrodifusión de los mismos (Smith et al 1.985).

La hidrólisis continuada de la urea por parte de *H. pylori* comportaría, como consecuencia, un incremento de pH a nivel de la superficie de la mucosa, especialmente en la proximidad de los espacios intercelulares, determinando un gradiente transmucosa de tipo amónico. Estos cambios no permitirían el paso de los iones  $\text{H}^+$  desde las glándulas gástricas a la luz gástrica y favorecerían la retrodifusión.

Además las elevadas concentraciones de amonio en la zona de hidrólisis de la urea también pueden contribuir a la lesión hística, al afectar directamente la ATPasa -  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  de las células epiteliales gástricas.

Murakami et al (1.987) han observado que la concentración elevada de urea en sangre y la importante actividad ureásica en la mucosa del estómago aumentan el amonio gástrico, lo que provoca lesión en la barrera mucosa,

explicando así la prevalencia elevada de gastroduodenitis en pacientes urémicos.

Para Sidebotam y Baron (1.990) el amoníaco, liberado en la mucosa gástrica por la acción de la ureasa de *H. pylori* sobre la urea plasmática trasudada, reduce la biosíntesis de moco y/o produce una desestructuración del mismo en la superficie de la mucosa. Estos cambios facilitan la colonización por *H. pylori* y pueden provocar otros efectos (ulcerogénicos) del microorganismo, como la inhibición de la somastostatina, la estimulación vagal y la liberación de endotoxinas.

#### COLONIZACION DEL MOCO GASTRICO Y MOVILIDAD DE H. PYLORI.

Los estudios realizados sobre biopsias gástricas, han demostrado que *H. pylori* se localiza preferentemente en el interior del moco gástrico, en íntima proximidad con las células epiteliales (Hazell et al 1.986). Parece ser que *H. pylori* es una bacteria especialmente adaptada al nicho ecológico que forma el moco de la superficie epitelial del



estómago (Pinkard et al 1.986).

Este especial tropismo parece deberse a tres factores básicos:

1. Su sensibilidad al ambiente ácido, ya que no es capaz de crecer a un  $\text{pH} \leq 4$  (Itoh et al 1.987).
2. Su sensibilidad a las sales biliares a una concentración superior al 5% (Tompkins y West, 1.987), lo cual no le permite colonizar otros territorios intestinales.
3. Necesidades nutritivas. *H. pylori* parece ser una bacteria dependiente de hemina (Hazell et al 1.986), de modo que su carácter hemolítico le permitiría obtener en las zonas profundas de la mucosa esta sustancia derivada de los hematíes allí localizados. Además, la urea presente en la sangre se difundiría a estas mismas zonas en donde podría ser utilizada metabólicamente o como factor protector, ya que la formación de amonio neutraliza los iones  $\text{H}^+$  del medio (Tompkins y West, 1.987).

La intensa movilidad de *H. pylori* en el moco, incluso en condiciones de elevada viscosidad (Hazell et al 1.986), le permitiría moverse a gradientes más favorables de pH.

La infección experimental con *H. pylori* en cerdos gnotobióticos ha puesto de manifiesto que la movilidad fué el factor de virulencia más importante identificado (Eaton et al 1.989). Para Buck et al (1.986) debido a esta movilidad y bajo la influencia de ciertas sustancias quimotácticas, *H. pylori* se localizaría en las criptas y espacios intercelulares, donde podría multiplicarse liberando una serie de metabolitos o sustancias tóxicas que desencadenarían los cambios de tipo inflamatorio.

La reducción de moco sobre el tejido inflamado, es característico de la gastritis asociada a *H. pylori* (Gilman et al 1.986) y se observa un aumento después del tratamiento con agentes antibacterianos (Morgan et al 1.988; Glupcynski et al 1.988).

*H. pylori* podría jugar un papel patogénico a través de la degradación de la capa mucosa protectora que permitiría a la secreción ácida y pepsina lesionar a la mucosa gástrica (Blaser, 1.990).

### PRODUCCION DE TOXINAS.

Leunk et al (1.988) han descrito una proteína de *H. pylori*, sensible al calor y a la tripsina, que es citolítica para cultivos celulares.

En la infección experimental de cerdos gnotobióticos, la producción de elevados niveles de citotoxina se asocia con resultados patológicos graves y con vacuolización intraepitelial (Eaton et al 1.989).

Se ha estudiado la producción de toxinas en cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con patología gástrica. Las cepas de *H. pylori* asociadas con enfermedad ulcerosa péptica son más frecuentemente citotoxigénicas que las que se asocian únicamente con gastritis (Figura et al 1.989; Cover et al 1.989). Sin embargo, el papel que la citotoxina juega en la enfermedad humana no se ha establecido todavía.

### ADHERENCIA ESPECIFICA Y EFECTO PATOGENO DIRECTO.

Goodwin et al (1.986 a) han observado en estudios

ultraestructurales que *H. pylori* produce un efecto citopático muy similar al producido por *E. Coli* enteropatógeno. Así, esta bacteria se adhiere a la mucosa gástrica a través de sus pilis, produce una destrucción de las microvellosidades y una alteración del citosqueleto submembranoso que soporta los microfilamentos celulares y provoca una profunda deplección de moco.

La selectividad de la adherencia de *H. pylori* queda demostrada por la no afectación de las zonas con metaplasia intestinal cercanas a las células secretoras de moco. El deterioro de la capa protectora de moco, predispondría al desarrollo de una úlcera cuando la secreción ácida y la pepsina alcancen la mucosa lesionada (Waghorn, 1.987).

#### **1.8. DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR H. PYLORI.**

El diagnóstico de la infección por *H. pylori* es especial y, en muchos casos, diferente al diagnóstico de otras infecciones por las siguientes razones:

1. *H. pylori* coloniza exclusivamente un especial nicho ecológico, el estómago y la parte superior del duodeno, y el acceso a estos lugares requiere el uso de técnicas invasivas como es la endoscopia.
2. La infección por *H. pylori* es, con frecuencia, crónica y persistente por lo que la evolución de los títulos de anticuerpos no es la misma que se observa en las infecciones agudas.
3. *H. pylori* posee una fuerte actividad ureasa que proporciona gran ayuda en el diagnóstico.

La mayoría de los métodos para diagnosticar la infección por *H. pylori*, utilizan muestras de biopsia gástrica obtenidas por endoscopia, siendo el antro el lugar de elección para la obtención de la muestra (Marshall et al 1.985 c).

El cepillado citológico ha sido utilizado por algunos autores (Estrin et al 1.987; Debognie et al 1.987), obteniendo buenos resultados en cuanto a la detección de *H. pylori*. Esta técnica tiene el inconveniente, con respecto al diagnóstico histológico, de que es imposible conocer el

estado de la mucosa gástrica y como consecuencia la existencia o no de gastritis.

Se utilizan métodos directos e indirectos para detectar la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica (Tabla VI) y la eficacia de cada método como técnica diagnóstica va a depender de cual sea el estándar con el que se le compare (Barthel y Everett, 1.990).

#### 1.8.1. ESTUDIO HISTOLOGICO

El estudio histológico tiene la ventaja de que muestra la localización de la bacteria en relación a al mucosa.

*H. pylori* se localiza en el interior de la capa mucosa que recubre el epitelio gástrico. También se puede ver en íntimo contacto con la superficie de las células epiteliales, tendiendo a concentrarse en las uniones intercelulares. No coloniza áreas con metaplasia intestinal (Price, 1.988).

Se acepta que la mejor forma de visualizar a *H. pylori* es con la tinción de plata de Warthin-Starry, tinción que utilizaron Warren y Marshall en 1.983 para ponerla de

T A B L A VIMétodos de detección de H. pylori**Estudio histológico**

Hematoxilina eosina (HE)

Tinción de Warthin-Starry (WS)

Tinción de Giemsa

Naranja de acridina

**Estudio microbiológico**

Cultivo de la biopsia gástrica

Tinción de Gram

**Estudio Serológico****Prueba de la ureasa**

Urea de Christensen

CLO test

**Prueba del aliento con urea**

Con <sup>14</sup>C radiactivo

Con <sup>13</sup>C no radiactivo

manifiesto, pero con la práctica, con la tinción más habitual de hematoxilina-eosina, se consiguen buenos resultados (Rathbone et al 1.986 a).

*H. pylori* se tiñe débilmente con hematoxilina-eosina y, para algunos autores, esta tinción es menos sensible que el Warthin-Starry (The Gastrointestinal Physiology Working Group, 1.986).

La tinción de Warthin-Starry muestra bacilos espirilares negros o amarillos de mayor tamaño que como se observan en otras tinciones, pero ésta presenta algunos problemas en su realización como es la frecuente precipitación. Para algunos autores el Giemsa es una buena alternativa.

Gray et al (1.986), comparan estas dos tinciones y no encuentran diferencias en la tasa de detección. Sin embargo, Gustavsson et al (1.987) comparan el Warthin-Starry, hematoxilina-eosina y Giemsa y llegan a la conclusión de que la identificación de *H. pylori* es más fácil con el Warthin-Starry.

Otras tinciones que se utilizan en el diagnóstico histológico son: la tinción fluorescente con naranja de acridina (Walters et al 1.986) y técnicas inmunohistológicas



con anticuerpos monoclonales (Engstrand et al 1.986).

La ventaja principal del estudio histológico de la biopsia es que éste sirve, no sólo para identificar a la bacteria, sino también para confirmar el diagnóstico de gastritis.

Debido a la distribución salteada de *H. pylori*, se aconseja obtener múltiples biopsias para estar seguros del diagnóstico.

Morris et al (1.989) han observado, que el exámen de múltiples secciones de varias biopsias, es más sensible para detectar infección por *H. pylori* (93%) que el estudio de múltiples secciones de una sola biopsia (84%). En un 6% de los pacientes infectados, el microorganismo estaba presente en una biopsia pero no en otra que había sido tomada al mismo tiempo.

En un estudio realizado por Nedenskov-Sorensen et al (1.991) se indica que mientras una biopsia es suficiente para el aislamiento de *H. pylori*, son necesarias varias muestras para el diagnóstico histológico.

Para Barthel y Everett (1.990), el estudio histológico es el "patrón de oro" en el diagnóstico de la infección por

*H. pylori*, ya que con él se puede detectar la presencia de *H. pylori* y la gastritis histológica.

#### 1.8.2. CULTIVO.

Desafortunadamente, el aislamiento de *H. pylori* no es fácil.

Múltiples estudios han puesto de manifiesto la importancia del transporte y conservación de la muestra clínica para poder obtener la máxima eficacia en el aislamiento de este microorganismo.

*H. pylori* pierde rápidamente la viabilidad en ClNa al 0,9% a temperatura ambiente (Hartmann y Von Graevenitz, 1.987). Como las bacterias se encuentran debajo de la capa de moco en íntimo contacto con la mucosa, para mantener esa capa de moco y que no exista pérdida de bacterias, Goodwin et al (1.985 a) recomiendan como medio de transporte una pequeña cantidad de líquido hipotónico (0,5 ml de glucosa al 20%). En este medio, la biopsia se puede mantener a 4° C durante 5 horas sin pérdida de viabilidad para *H. pylori*.

Otros medios de transporte utilizados son: Caldo thioglicolato, caldo nutriente, caldo brucella (Coghlan et al 1.987) o una pequeña cantidad de sangre de carnero defibrinada (Barthel y Everett, 1.900).

La preparación del inóculo es otro punto importante en el cultivo.

Triturando la biopsia con una pequeña cantidad de glucosa al 20%, se consigue un crecimiento mayor de *H. pylori* que troceando la biopsia antes de inocularla (Goodwing et al 1.985 a).

Como ya he descrito anteriormente, se han utilizado gran cantidad de medios de cultivo para aislar *H. pylori*.

En general se emplea un medio no selectivo, como es el agar sangre enriquecido o el agar chocolate, y otro selectivo como el medio de Skirrow o el medio de Goodwin. Estos medios se incuban a 37° C en atmósfera microaerófila, durante 7 días.

Se han descrito una serie de factores que pueden ser responsables de la inhibición o no crecimiento de *H. pylori* durante el cultivo, tales como: el uso de anestésicos tópicos o simeticona durante la endoscopia, la ingestión reciente de

antagonistas  $H_2$  o antibióticos, la contaminación de las pinzas del gastroscopio con glutaraldehído o con otros microorganismos, la distribución salteada de *H. pylori* en la mucosa, que los medios de cultivo no sean recientes o estén demasiado secos y que la atmósfera de incubación no sea húmeda (Marshall et al 1.985).

Por todas estas causas la detección de *H. pylori* por cultivo de la biopsia es más difícil que por otros métodos, a pesar de ello, el cultivo es la técnica de referencia en microbiología, ya que es el único medio que tenemos para aislar e identificar a la bacteria y posteriormente conocer su sensibilidad antimicrobiana.

### 1.8.3. TINCION DE GRAM.

En el estudio microbiológico de la biopsia, la tinción de Gram es uno de los métodos rápidos utilizados para el diagnóstico de *H. pylori* (Montgomery et al 1.988).

Contrariamente a lo que ocurre para el cultivo, Parsonnet et al (1.988), comunican mejores resultados cuando la tinción

de Gram se hace de la impronta que del triturado de la biopsia.

McNulty et al (1.989) utilizan como contracolorante carbol fuchina diluída en vez de safranina. Con esta tinción se pueden observar los típicos bacilos gram negativos, espirilares, con frecuencia en acúmulos, aunque en otras ocasiones sean difícil de ver debido a la distribución salteada de *H. pylori* en la biopsia (Megraud, 1.989).

#### 1.8.4. ESTUDIO SEROLOGICO.

El diagnóstico serológico se basa en la respuesta inmune que la infección por *H. pylori* provoca (Joes et al 1.984).

Ya he comentado anteriormente el tipo de anticuerpos que se producen, así como las técnicas utilizadas para su detección. Es interesante conocer cual es el papel de la serología como técnica diagnóstica.

Mientras que la serología tiene un papel indudable para conocer la epidemiología de *H. pylori*, su papel en la clínica es incierto y está sujeto a muchas especulaciones (McKinlay

et al 1.990).

La investigación de anticuerpos se ha estudiado no sólo desde el punto de vista del diagnóstico clínico, sino también para el seguimiento de pacientes en tratamiento.

En relación a su utilidad en el diagnóstico clínico existen gran variedad de opiniones.

Para Loffeld et al (1.989), la serología puede reemplazar a la endoscopia en el diagnóstico de la gastritis asociada a *H. pylori*. Newell et al (1.988) describen un ELISA que puede ser usado como screening de pacientes con gastritis asociada a *H. pylori*, antes de la endoscopia. Sin embargo, para Barthel y Everett (1.990) las técnicas serológicas presentan limitaciones en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y su resultado debe ser interpretado en el contexto de la situación clínica, más que aceptarlo como una evidencia de infección activa. A esta misma conclusión llegan Meyer et al (1.991). Para estos autores la presencia de anticuerpos frente a *H. pylori* no indica si una persona tiene infección activa o no. Desafortunadamente, se conoce mal el curso clínico de la infección por *H. pylori*.

Varios autores han estudiado el efecto del tratamiento

sobre los anticuerpos anti-*H. pylori* y observan que el título de IgG disminuyó significativamente después de la eliminación de la bacteria (Van Bohemen et al 1.988; Vaira et al 1.988 a). Sin embargo, se cuestiona todavía el valor de la serología para seguir el tratamiento (Langenberg et al 1.988).

#### 1.8.5. PRUEBAS DE UREASA.

Las pruebas de la ureasa se basan en la fuerte actividad ureásica que posee *H. pylori*, convirtiendo la urea en amonio y bicarbonato. Existe tanta ureasa en la mucosa gástrica de los pacientes con gastritis por *H. pylori*, que la positividad de la prueba en las muestras biópsicas se considera un método de detección de este microorganismo.

Esta actividad ureasa se puede detectar fácilmente utilizando diferentes medios con urea.

El caldo urea de Christensen ha sido el más empleado (McNulty y Wise, 1.985).

El test consiste en incubar la biopsia gástrica en 0,5

ml del medio de Christensen durante 24 horas. Si existe ureasa preformada, ésta actúa sobre el sustrato alterando el pH y provocando un cambio de color de amarillo a rosa. Cuando la prueba es negativa no se produce ningún cambio cromático.

La temperatura de incubación varía en los diferentes estudios: temperatura ambiente (McNulty et al 1.989) y 37° C (Megraud, 1.988 b). Mobley et al (1.988) sugieren que la temperatura óptima para la detección de la ureasa de *H. pylori* es 43° C.

La sensibilidad de este test es buena y oscila entre 74 al 92% (Das et al 1.987; McNulty et al 1.989). Si existe gran número de bacterias el cambio de color se puede producir antes de 1 hora.

Las bacterias ureasa positivas como *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* o algunas *Pseudomonas aeruginosa* pueden dar una reacción positiva a las 24 horas (Megraud, 1.989), pero a pesar de esto la especificidad en general es muy alta, 99-100% (McNulty et al 1.989).

La sensibilidad de estas pruebas disminuye cuando no se realizan inmediatamente después de extraer la biopsia (ureasa inmediata), sino posteriormente en el laboratorio (ureasa



tardía) (McNulty y Wise, 1.986).

El CLO test (Delta West, Ltd Canning Vale, Western Australia) es una prueba comercial realizada con el fin de facilitar la detección de la ureasa. La principal ventaja con respecto al medio de Christensen es su comodidad para inocularla en la sala de endoscopias.

Su sensibilidad, en general, es mejor que con el medio convencional de Christense, 96% frente a 75% (Morris et al 1.986). Sin embargo, para Vaira et al (1.988 b) la sensibilidad de CLO test es mucho menor, 58%.

Parece ser que existe una correlación entre el número de bacterias en la biopsia y la velocidad de positivización del CLO test (Borromeo et al 1.987), por lo que su sensibilidad puede disminuir considerablemente cuando el número de bacterias es pequeño.

#### 1.8.6. PRUEBA DEL ALIENTO CON UREA

La búsqueda de técnicas no invasivas para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, ha conducido al desarrollo de

esta prueba en la que la urea marcada con  $^{13}\text{C}$  ó  $^{14}\text{C}$  actúa como sustrato para la ureasa.

En la prueba del aliento con urea, se administra al paciente urea marcada con un isótopo y se recoge el dióxido de carbono exhalado para su análisis. La urea puede estar marcada con carbono radioactivo ( $^{14}\text{C}$ ), que es fácilmente detectado con un contador de centelleo (Marshall y Surveyor, 1.988) o con carbono no radioactivo ( $^{13}\text{C}$ ) que debe ser analizado mediante un espectómetro de masas (Graham et al 1.987 a).

Las ventajas de este test es que es rápido y no invasivo. Las desventajas, que se necesita un equipo muy especializado.

#### **1.9. TRATAMIENTO DE LA INFECCION POR H. PYLORI.**

Desde que se conoce la asociación de *H. pylori* con la patología gastroduodenal, la búsqueda de un tratamiento eficaz que erradique a esta bacteria ha sido constante y la respuesta al tratamiento de este microorganismo se considera

una evidencia importante de su papel como patógeno.

Como expuse anteriormente, los estudios realizados "in vitro" demuestran que *H. pylori* es sensible a gran cantidad de agentes antimicrobianos, incluyendo a las sales de bismuto, por lo que la eliminación de esta bacteria debería ser fácil. Sin embargo, en la práctica clínica, la erradicación de *H. pylori* resulta difícil de conseguir.

Varios estudios han demostrado que la erradicación de *H. pylori* mediante las sales de bismuto o antibióticos, produce una importante mejoría en la gastritis (McNulty et al 1.986; Rauws et al 1.988), así como una reducción en la tasa de recidivas de la úlcera péptica (Coghlan et al 1.987). Sin embargo, se ha observado que la recidiva de *H. pylori* ocurre con frecuencia.

Una posible explicación para este hecho puede ser la difícil penetración de los distintos antimicrobianos hasta el especial nicho ecológico donde se halla este microorganismo.

No sólo es problemática la penetración hasta la capa mucosa, que resulta inaccesible a los antibióticos sistémicos como la amoxicilina, sino también a las células mucosas

adyacentes y a las glándulas secretoras de moco, donde *H. pylori* queda protegido de la acción tópica del bismuto (Goodwin et al 1.986 a).

Este hecho puede dar lugar a que algunas bacterias puedan sobrevivir al tratamiento y, al cesar éste, multiplicarse y recolonizar la mucosa gástrica. Por otro lado, un factor importante puede ser la generación de formas cocoides resistentes, que pueden ser inducidas por concentraciones subinhibitorias de agentes antimicrobianos (Catrenich y Makin, 1.990) y son capaces de resistir a la acción antibacteriana de éstos (Malfertheiner et al 1.990).

Existe evidencia de que la reaparición de *H. pylori* después del tratamiento, representa una recidiva de la infección original, más que una reinfección por otra cepa (Langenberg et al 1.986).

Para Rauws et al (1.988), de los pacientes que permanecen negativos para *H. pylori* un mes después de finalizar el tratamiento, el 85% seguirá siendo negativo después de un período de 12 meses, por lo que si *H. pylori* se erradica, sólo alrededor de un 10% de pacientes recaerá.

¿Cuál es la efectividad de los diferentes tratamientos?  
Se han utilizado múltiples pautas y algunas se exponen en la  
Tabla VII.

#### MONOTERAPIA.

---

Uno de los tratamientos más empleados han sido las sales  
de bismuto.

Los estudios realizados utilizando sales de bismuto,  
demuestran la eficacia de estos compuestos para erradicar a  
*H. pylori*, aunque es frecuente la aparición posterior de  
recidivas (Lanza et al 1.986; Rauws et al 1.988).

Tytgat et al (1.988 b) tratan a 101 pacientes con  
subcitrato de bismuto coloidal (SBC) durante 4 semanas. La  
erradicación de *H. pylori* ocurre sólo en 33. Lambert et al  
(1.986), utilizando el mismo fármaco entre 4 y 8 semanas,  
erradica a la bacteria en 20 de los 28 pacientes tratados.

McNulty (1.990) estudia el efecto del SBC, eritromicina  
y placebo en el tratamiento de la gastritis asociada a *H.*  
*pylori*. El SBC fué más efectivo en la erradicación de la

T A B L A VII

Tratamientos utilizados en la patología  
gástrica asociada a H. pylori

Autor	Tratamiento
<b>MONOTERAPIA</b>	
Tytgat et al (1.988 b)	SBC
McNulty (1.990)	SBC
Glupczynski et al (1.988)	Amoxicilina
McNulty (1.990)	Eritromicina
Stone et al (1.988)	Ciprofloxacina
Mertens et al (1.989)	Norfloxacina
<b>TERAPIA DOBLE</b>	
Weil et al (1.988)	SBC + amoxicilina
Drumm et al (1.988)	SSB + ampicilina
Marshall et al (1.988)	SBC + tinidazol
<b>TERAPIA TRIPLE</b>	
Borsch et al (1.988)	SBC + amoxicilina + metronidazol
Carrick et al (1.990)	SBC + tetraciclina + metronidazol
Lamouliatte et al (1.990 a)	Omeprazol+amoxicilina + tinidazol

SBC: Subsalicilato de bismuto coloidal

SSB: Subsalicilato de bismuto

bacteria y mejoría de la gastritis que la eritromicina o el placebo.

Una de las mayores dificultades que se presentan en el tratamiento de la úlcera péptica, es la frecuencia con que ocurren recidivas.

La supresión ácida durante 4-8 semanas, cicatriza la mayoría de las úlceras duodenales (Jones et al 1.987; McIsaac et al 1.987), pero un 70-80% de úlceras cicatrizadas recidiva al cabo de un año (Wormsley, 1.986).

Se ha observado que la tasa de recidivas de las úlceras duodenales es inferior después de la cicatrización con SBC que después de la cicatrización con antagonistas de los receptores  $H_2$  (Hamilton et al 1.986; Lane et al 1.988) y este menor porcentaje de recidivas se asocia con la erradicación de *H. pylori* (Coghlan et al 1.987).

La eficacia de las sales de bismuto puede explicarse bien por su actividad antimicrobiana o por su efecto protector de la mucosa. Las CMI's de las sales de bismuto presentan un rango de 4-32 mg/l para *H. pylori* (McNulty et al 1.985) y estas concentraciones se alcanzan localmente en la mucosa gástrica.

Por medio de la microscopía electrónica, Marshall et al (1.985 a) han puesto de manifiesto, que la unión de *H. pylori* y las sales de bismuto en las criptas conduce a una lisis de los microorganismos. Este hecho confirma que las sales de bismuto penetran a través de la capa mucosa y alcanzan las criptas en suficiente concentración para matar a *H. pylori*.

Para los que creen que el efecto protector podría ser la causa de la resolución de la patología gástrica asociada a *H. pylori* se ha argumentado, que otra sustancia que no tiene actividad antimicrobiana y sí es un protector de la mucosa, como es el sucralfato, no erradica a *H. pylori* y no tiene ningún efecto sobre la gastritis histológica (Langenberg et al 1.985).

Sangaletti et al (1.990) estudian la eficacia del sucralfato, en comparación con CBS más antibióticos, para cicatrizar la úlcera duodenal refractaria al tratamiento con anti  $H_2$  y *H. pylori* positivo. Mientras el sucralfato sólo cicatrizó las úlceras en un 13% de los pacientes sin eliminar a *H. pylori*, el tratamiento con CBS más amoxicilina y tinidazol cicatrizó el 100% de las úlceras duodenales y erradicó a *H. pylori* en todos los casos. Por lo que el efecto



protector de la mucosa parece inefectivo para resolver la patología gástrica.

La utilización de un solo beta-lactámico no es recomendable porque se observa una alta tasa de recaídas. Glupczynski et al (1.988) trata a 45 pacientes con amoxicilina durante 8 días. Al finalizar el tratamiento, en el 91% de los pacientes tratados con amoxicilina se había erradicado *H. pylori*, comparado con el 16% del grupo al que se le administró placebo. Sin embargo, la recaída ocurrió en el 100% de los enfermos al mes de haber finalizado el tratamiento.

El tratamiento único con eritromicina tampoco resulta efectivo en clínica, posiblemente, debido a su escasa actividad a pH ácido (McNulty, 1.990).

Las quinolonas fluoradas presentan varias características atractivas para su empleo en el tratamiento de la patología gástrica asociada a *H. pylori*, como son: su administración oral, buena presentación y baja incidencia de efectos adversos. Sin embargo, las quinolonas no erradican a *H. pylori* en los ensayos clínicos realizados (Stone et al 1.988; Mertens et al 1.989) y se aislan con frecuencia

microorganismos resistentes después del tratamiento (Canton et al 1.990).

Se sabe que el bismuto y algunos agentes antimicrobianos, actúan sinérgicamente "in vitro" frente a *H. pylori* (Van Caekenberghe et al 1.987) por lo que se han realizado ensayos clínicos, con asociaciones de dos o más fármacos, con el objeto de mejorar su eficacia en la erradicación de *H. pylori*.

#### DOBLE TERAPIA.

Con la asociación de dos antibacterianos, se han obtenido, en general, mejores resultados que con la monoterapia en el tratamiento de la patología gástrica asociada a *H. pylori*.

Weil et al (1.988), realiza un ensayo clínico con SBC más amoxicilina durante dos meses. Al final del tratamiento la tasa de erradicación era del 100%, y a las 4 semanas el 42% seguía siendo negativo para *H. pylori*; mientras que el porcentaje de erradicación con SBC sólo es del 90% y al cabo

de un mes el 30%.

Drumm et al (1.988) trata a 16 pacientes con SBC más ampicilina durante 6 semanas. A los 7 días de finalizar el tratamiento obtiene una tasa de erradicación del 75%. La gastritis mejoró en todos los pacientes en los que se erradicó a *H. pylori*.

Similares resultados se encuentran con SBC más tinidazol, con los que se obtiene una eliminación al finalizar el tratamiento del 74%, pasando a ser del 70% un año más tarde (Marxhall et al 1.988).

Este mismo autor, empleando solamente SBC, obtiene una erradicación inicial de *H. pylori* del 32%, que pasa a ser del 27% un año más tarde.

Bayerdörffer et al (1.990) estudia la tasa de recidivas de la úlcera duodenal en 204 enfermos a los que trata con tres pautas: a) SBC, b) SBC más amoxicilina y c) ranitidina. El porcentaje de recidivas, a las 4 semanas de haber finalizado el tratamiento fué: 34% con a), 12% con b) y 61% con c). Esta menor frecuencia de recidivas coincidió con una mayor erradicación de *H. pylori* por amoxicilina más SBC.

En general los tratamientos que se emplean son de larga

duración (2-8 semanas). Algunos autores han investigado la eficacia de pautas de tratamiento más cortas, obteniendo peores resultados (Labenz et al 1.990 a).

### TERAPIA TRIPLE.

Actualmente, la terapia oral triple es la más preconizada.

Börsch et al (1.988), obtienen una erradicación del 90% con SBC, amoxicilina y metronidazol durante dos semanas. El mismo resultado obtiene Lambert et al (1.990 e) con esta triple asociación; sin embargo, los porcentajes de erradicación son más bajos con CBS (25%), CBS más amoxicilina (63%) o CBS más metronidazol (64%).

Rauws et al (1.990) realiza un estudio en el que 50 pacientes con úlcera duodenal intratable por anti-H<sub>2</sub> fueron asignados aleatoriamente a 4 semanas de tratamiento con SBC (26 pacientes) o SBC más amoxicilina y metronidazol (24 pacientes). A las 8 semanas, 10 de los 26 pacientes tratados con SBC continuaban siendo positivos para *H. pylori* y sólo 2

de los 24 tratados con la triple terapia. Cuando se erradicó a *H. pylori*, las recidivas de la úlcera duodenal no se produjeron, al menos, durante 12 meses.

La triple terapia formada por SBC, tetraciclina y metronidazol, se ha ensayado, en comparación con ranitidina, en 129 enfermos con úlcera duodenal y *H. pylori*. Al finalizar el tratamiento, la tasa de cicatrización de la úlcera en el grupo de pacientes con ranitidina fué del 96,2%, pero solo se erradicó *H. pylori* en el 1,8%. Sin embargo, en los tratados con la triple terapia, el porcentaje de erradicación fué del 90,8% y el de cicatrización de la úlcera del 97,3%. Sólo dos úlceras recidivaron (2,6%) y en los dos casos *H. pylori* no se había erradicado (Carrick et al 1.990).

Lamouliatte et al (1.990 a) compara el efecto sobre *H. pylori* de dos triples tratamientos, 1) omeprazol-amoxicilina-tinidazol y 2) ranitidina-amoxicilina-tinidazol, en pacientes con úlcera duodenal.

La asociación de un fármaco antisecretor como omeprazol o ranitidina con amoxicilina y tinidazol, erradica a *H. pylori* en 81,5% de los casos, y sugieren que éste podría ser el tratamiento de elección en las úlceras duodenales

asociadas a *H. pylori*.

Se han observado con estos tratamientos gran cantidad de efectos secundarios, sobre todo con la triple terapia SBC-metronidazol-tetraciclina (Borody et al 1.988).

La acción de un importante antiulceroso, como es el omeprazol, también se ha estudiado.

Para Labenz et al (1.990 b) la pronunciada supresión ácida provocada por el omeprazol, mejora los resultados de la amoxicilina sobre *H. pylori*.

Mainquet et al (1.989) y Biasco et al (1.989) han comunicado que el tratamiento con omeprazol de pacientes con úlcera duodenal y cultivo positivo para *H. pylori* da como resultado una negativización de los cultivos después del tratamiento. Aunque no han determinado si la eficacia de esta sustancia se debe a la acción directa sobre la bacteria o a las modificaciones intragástricas, es tal vez la primera referencia que sugiere una acción directa sobre *H. pylori* de los inhibidores de la bomba de protones.

En un reciente estudio Iwahi et al (1.991) han puesto de manifiesto, la actividad antibacteriana de estos inhibidores de la bomba de protones, especialmente de un nuevo derivado,

el Lansoprazol. Parece ser que este compuesto puede actuar frente a *H. pylori*, local y sistémicamente, lo que lo hace muy útil para erradicar a esta bacteria. Tal vez esta desconocida acción de los inhibidores de la bomba de protones sea una de las causas por las que se han mostrado tan eficaces en el tratamiento de la patología gastroduodenal.

De todo lo expuesto se puede concluir que, cuando se consigue la erradicación de *H. pylori*, la gastritis asociada a este microorganismo, mejora significativamente y de igual modo disminuye la tasa de recidivas de la úlcera péptica, sobre todo de la úlcera duodenal, por lo que la asociación de sales de bismuto con antimicrobianos puede ser una alternativa terapéutica en los enfermos con esta patología.

Sin embargo, no se ha logrado un tratamiento adecuado para la erradicación de *H. pylori*. Son necesarios nuevos estudios hasta conseguir un tratamiento eficaz a largo plazo.

2. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DEL TRABAJO



Aunque las primeras descripciones de bacterias espirilares en el estómago humano se remontan a comienzos de siglo, es en 1.984 cuando Marshall y Warren aíslan a estas bacterias, actualmente conocidas como *H. pylori* y describen su asociación con gastritis y enfermedad ulcerosa.

Desde este momento el interés por dicha bacteria ha ido en aumento y muchos investigadores han estudiado en todo el mundo a *H. pylori*, describiendo su prevalencia en pacientes con patología gástrica y en población sana, pero sin embargo aquella parece variar en relación a la edad, nivel socioeconómico y localización geográfica.

*H. pylori* es un bacilo Gram negativo, de morfología espirilar, microaerófilo y con una gran actividad ureásica.

Existen testimonios evidentes de que *H. pylori* es capaz de producir gastritis tipo B y la infección por este microorganismo se asocia con úlcera péptica y dispepsia no ulcerosa. No obstante, tanto la epidemiología como las características patogénicas, permanecen en buena parte desconocidas.

El aislamiento de esta nueva bacteria y su implicación en la patología gastroduodenal ha supuesto, en un corto

período de tiempo, un cambio importante en la etiología de todo un conjunto de manifestaciones gastrointestinales que hasta ahora no se les había asociado con microorganismo alguno.

Debido a las importantes repercusiones que estos hechos pueden tener en la práctica clínica hemos creído interesante abordar este tema en nuestro medio.

Este estudio es el comienzo de una línea de trabajo con el que pretendemos adquirir nuestra propia experiencia en el diagnóstico de este nuevo patógeno, poner a punto los métodos a emplear en su diagnóstico y conocer la prevalencia de *H. pylori* en los pacientes con patología gástrica y población sana de nuestro medio.

Para ello, los objetivos específicos que nos hemos propuesto son:

- 1) Investigar la presencia de *H. pylori* en pacientes con sintomatología gástrica de nuestro medio.
- 2) Conocer su vinculación real con las distintas patologías gastroduodenales.

- 3) Estudiar cuál es la microbiología de este microorganismo y su sensibilidad antimicrobiana.
- 4) Evaluar los diversos métodos utilizados para su detección.
- 5) Investigar la presencia de respuesta inmune frente a *H. pylori* en el suero de los pacientes.
- 6) Conocer algunos aspectos de la epidemiología de *H. pylori* en nuestro medio como son:
  - Prevalencia de anticuerpos frente a *H. pylori* en la población sana.
  - Establecer si existe un mayor riesgo de adquirir la infección en el personal de gastroenterología, en contacto directo con las secreciones gástricas de enfermos infectados por este microorganismo.

### 3. MATERIAL Y METODOS

### 3.1. PACIENTES.

Se han estudiado 79 pacientes no consecutivos remitidos a la Unidad de Endoscopia Digestiva de nuestro Hospital por presentar sintomatología digestiva alta sugestiva de enfermedad gastroduodenal. Se trataba de 61 varones y 18 mujeres, con una edad media de  $59 \pm 14$  años (intervalo 21-93).

En el momento de la endoscopia, 45 pacientes tomaban algún tratamiento para su patología gastroduodenal (3 antiácidos, 28 antagonista  $H_2$  y 14 antiácidos + anti  $H_2$ ) y 27 no lo hacían. En 7 pacientes no constaba este dato. Las características de los pacientes y los tratamientos se exponen en la Tabla VIII.

### 3.2. ENDOSCOPIA Y BIOPSIAS.

Las gastroscopias fueron realizadas por los especialistas de la Unidad de Gastroenterología. Se realizó sin premedicación alguna y según técnica habitual para esta

T A B L A VIII

CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS

Nº de pacientes .....	79
Edad media+DS .....	59 ± 14
intervalo .....	21 - 93
SEXO: Hombres .....	61
Mujeres .....	18
Con tratamiento .....	45
antiácidos .....	3
anti-H <sub>2</sub> .....	28
antiácidos + anti H <sub>2</sub> .....	14
Sin tratamiento .....	27

exploración. Se utilizó un fibrogastroscoPIO Olympus 1T-10 para todas las exploraciones.

Después de cada endoscopia, se procedió a la desinfección del fibroendoscopio y pinza de biopsia, introduciéndolo en glutaraldehido al 2%.

De cada paciente se tomaron 5 biopsias antrales. Una de ellas se utilizó para realizar la prueba de la ureasa inmediata (CLO Test). Dos eran introducidas en formol al 10% y destinada al estudio histológico y dos biopsias eran enviadas a Microbiología en un tubo de ensayo estéril con una pequeña cantidad de líquido Hipotónico (0,5 ml. de glucosa al 20%) (Godwin et al, 1.985 a).

### 3.3. ESTUDIO HISTOLOGICO.

Las biopsias destinadas al estudio histopatológico, se fijaron con formol al 10% y posteriormente se incluyeron en parafina.

Todos los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina (HE) y esta tinción se utilizó tanto para el diagnóstico

histopatológico como para la identificación del microorganismo. Para establecer más claramente la presencia de *H. pylori* se utilizó también la tinción de Warthin-Starry (WS). Solo en algunos casos, se tiñeron las biopsias con Giemsa modificado (Gray et al 1.986).

Para el estudio histológico de las biopsias se usó un criterio estándar (Whitehead 1.985). Basándonos en la clasificación de SYDNEY (Misiewicz 1.990) en cada biopsia se anotó la presencia y grado de infiltrado inflamatorio, actividad, atrofia glandular y metaplasia intestinal.

La gastritis histológica fué clasificada como Gastritis crónica o Gastritis crónica activa, según el infiltrado inflamatorio estuviara formado por células linfoplasmáticas solamente o también por neutrófilos.

Una biopsia se consideró normal desde el punto de vista histológico cuando no se vieron células inflamatorias ni destrucción glándular. Fué diagnosticada de Gastritis crónica cuando el infiltrado inflamatorio estaba formado por células mononucleares (linfocitos y células plasmáticas) y de Gastritis crónica activa cuando además se detectaba la presencia de polimorfonucleares neutrófilos.



Tanto la actividad como la atrofia se graduó como leve (+) moderada (++) y severa (+++).

### 3.4. UREASA INMEDIATA (CLO Test).

El CLO Test (Delta West Ltd) Fig. 2 es una prueba comercial consistente en una pequeña pieza de agar que contiene urea, rojo de fenol y un agente bacteriostático para inhibir los microorganismos contaminantes productores de ureasa que pueden dar falsos positivos. El pH de este medio es igual a 6, con lo que el color del agar es amarillo. Cuando *H. pylori* está presente en la biopsia gástrica, la ureasa preformada de *H. pylori* actúa hidrolizando la urea del medio, lo que provoca subida en el pH y un cambio de color de amarillo a rosa.

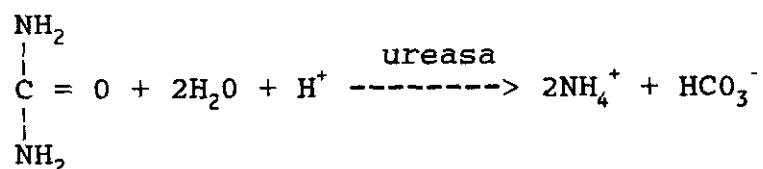




Figura 2: CLO test. En la parte superior se puede observar una prueba negativa. En la inferior existe un cambio cromático del amarillo al rosa producido por la actividad ureática de *H. pylori*.

El CLO Test se realizó en 55 pacientes insertando, inmediatamente después de ser extraída del paciente, una de las biopsias en el agar. Se mantuvo a temperatura ambiente hasta su lectura.

El test se consideró positivo cuando el indicador viró de amarillo a rosa. La lectura de este cambio cromático se hizo a los 5,' 15', 1h, 3h y 24h.

### 3.5. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO.

A la Sección de Microbiología se enviaron dos biopsias de antro por paciente. Las biopsias se mantenían a 4° C hasta su procesamiento, por un tiempo máximo de 2 h..

#### 3.5.1. TINCIÓN DE GRAM E INOCULO.

Al comienzo del estudio y con las 22 primeras muestras, la extensión para la tinción de Gram y el inóculo se hicieron de dos formas:

- Una frotando la biopsia sobre un porta estéril (Gram-Frotado) y posteriormente sobre los medios de cultivo.
- La otra triturando la biopsia en 0,3 ml. de glucosa al 20% con un mortero estéril. Una parte de este triturado se utilizó para hacer la extensión (Gam-Triturado), el resto se utilizó para el cultivo y la ureasa tardía (caldo urea de Christensen).

Las 57 muestras restantes se procesaron, en primer lugar frotando la biopsia por el porta y posteriormente triturándola para el cultivo y ureasa tardía.

Las extensiones una vez fijadas con calor, si tiñeron con el método de Gram usando como contracolorante carbol fuchina al 0,3% (Lennette 1.985). Posteriormente, se observaban al microscopio óptico a 1.000 aumentos con aceite de inmersión en busca de las característicos bacilos curvados Gram negativos.

El número de bacterias vistas en las extensiones se cuantificó de (+) a (+++).

3.5.2. CULTIVO

Después de realizar las extensiones, cada biopsia se sembró en 3 medios de cultivo: Agar sangre (AS), Agar sangre más inhibidores de Skirrow (SK) y Agar sangre más vancomicina, Ac. Nalidixico y Anfotericina B (VNA).

Las placas se incubaron durante 7 días a 37°C en atmósfera microaerofílica (Campy-Pack, (BBL), con catalizador) y con 98% de humedad (Goodwin 1.985 a). Se observaron diariamente a partir de las 48 h. en busca del crecimiento de colonias características.

La composición de los medios de cultivo utilizados fué:

AS (Agar sangre)

Brain heart infusion (Oxoid)

Sangre de caballo desfibrinada 7%

Isovitallex (BBL) 1%

SK (AS + inhibidores de Skinow)

Brain heart infusion (Oxoid)

Sangre de caballo desfibrinada 7%

Isovitalex (BBL)	1%
Vancomicina	10 mg/l
Polimixina B	2.500 UI
Trimetoprim	5 mg/l

UNA (AS + inhibidores descritos por Goodwin)

En realidad se trata del medio selectivo descrito por Goodwin et al (1.985 a).

Brain heart infusion (Oxoid)

Sangre de caballo desfibrinada	7%
Isovitalex (BBL)	1%
Vancomicina	6 mg/l
Acido nolidixico	20 mg/l
Anfotericina B	2 mg/l

3.5.3. UREASA TARDÍA

Después del cultivo, el resto de triturado de la biopsia se inoculó en 0,5 ml de caldo urea de Christensen (DIFCO).

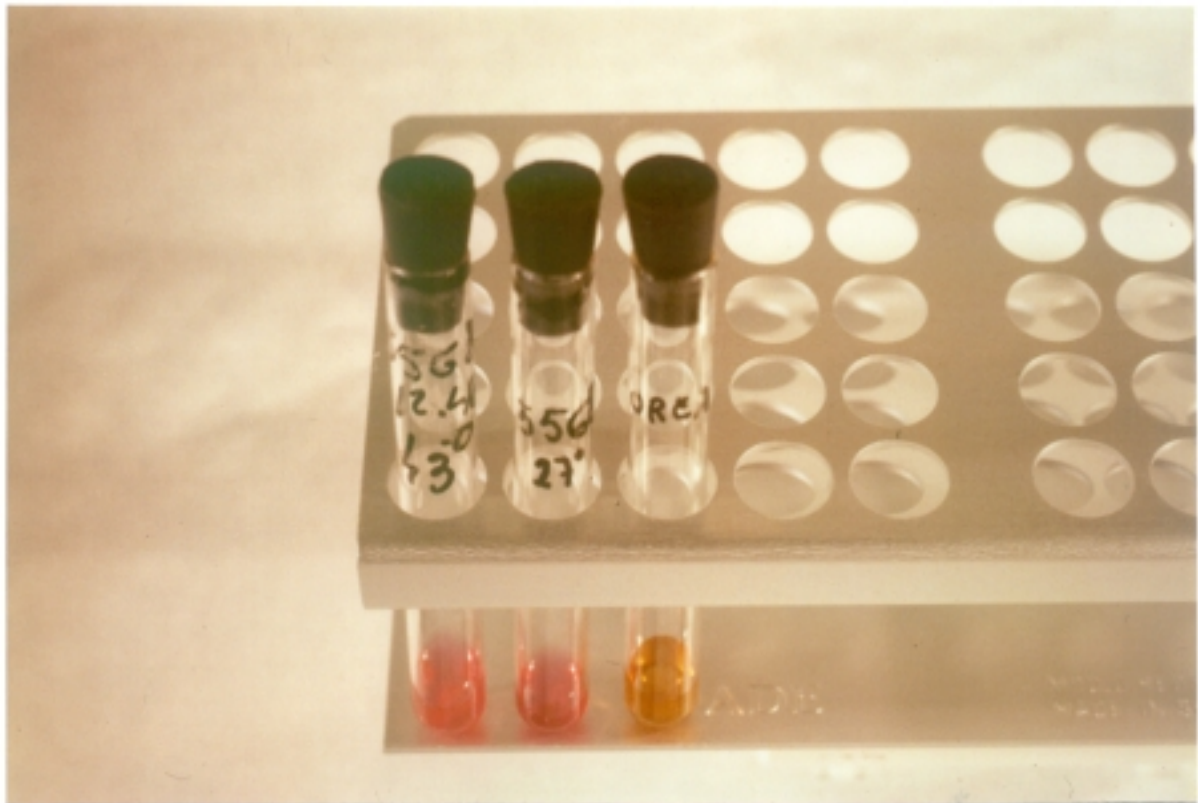
Esta prueba, como el CLO test, detecta la presencia de ureasa preformada producida por *H. pylori* en la biopsia, por lo que no se requiere el crecimiento del organismo.

La ureasa tardía se realizó a temperatura ambiente en las 79 biopsias estudiadas, y a 43° C en 36. Según Mobley et al (1.988), 43° C es la temperatura óptima para detectar la ureasa de *H. pylori*.

Un cambio a color rosa del medio, se consideró como resultado positivo (Fig. 3). La lectura de este viraje se hizo a las 5', 15', 1 h, 3 h y 24 h.

#### 3.5.4. IDENTIFICACIÓN DE LAS COLONIAS

La identificación de las colonias que crecían en las placas de cultivo se ha llevado a cabo mediante el estudio de su morfología con la tinción de Gram, prueba de la catalasa, oxidasa, hidrólisis rápida de la urea y susceptibilidad al ácido nalidixico y cefalotina, según métodos descritos por Megraud et al (1.985).



**Figura 3:** Prueba de la ureasa en el medio de Christensen a T° AB y 43° C. Cambio cromático de amarillo a rosa producido por la actividad ureásica de *H. pylori*.



### 3.5.5. SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

En los casos en que creció el cultivo y se mantuvo viable, se determinó su sensibilidad frente a los siguientes antimicrobianos: ampicilina (10 mcg), eritromicina (15 mcg), fosfomicina (50 mcg), gentamicina (10 mcg), tetraciclina (30 mcg), norfloxacin (10 mcg) y metronidazol (5 mcg).

El medio utilizado fué el agar sangre y la técnica difusión en agar. El inóculo se preparó ajustando la suspensión bacteriana a una turbidez correspondiente a la escala 1 de McFarland. Las placas se incubaron a 37° C en atmósfera microaerofílica. La lectura se efectuó a las 72 h.

### 3.6. ESTUDIOS SEROLÓGICOS

Con el fin de investigar la presencia de anticuerpos frente a *H. pylori* se estudiaron:

- 30 sueros obtenidos de los pacientes tras la realización de la endoscopia.

- 161 sueros procedentes de voluntarios sanos (126 eran donantes de sangre y 35 estudiantes)
- 23 sueros de personal de gastroenterología (médico y de enfermería) de nuestro Centro y otros Hospitales del área, considerado como de alto riesgo.

La población sana estudiada rellenó un cuestionario para determinar la edad, sexo, historia de molestias gástricas y si había recibido tratamiento. El personal de gastroenterología hizo constar también en su encuesta, el número de años que había trabajado en gastroenterología y los años que se había puesto guantes durante las endoscopias.

Todos los sueros se congelaron a  $-70^{\circ}$  C hasta el momento de su análisis.

### Técnica

Para detectar la presencia de IgG-anti *H. pylori* se utilizó la técnica de ELISA GAP-IgG (Allergy Inmuno

Technologies Inc, California) modificada por nosotros, en orden a la obtención de resultados cuantitativos.

Los antígenos inmovilizados en los pocillos son específicos de *H. pylori*. La lectura se efectuó a 405 nm (longitud de onda secundaria: 492 nm).

Para obtener resultados cuantitativos, cada gota (indicada por el fabricante) se tomó como 50 ml, siguiendo el resto del procesamiento como indica la técnica.

La curva de referencia se obtuvo por diluciones seriadas del control positivo suministrado por la casa comercial.

El control negativo se ensayó por triplicado y las muestras por duplicado. Los sueros se diluyeron al 1/200. Las muestras que en su lectura superaron a la dilución más baja del control positivo se volvieron a analizar a diluciones mayores (1/400, 1/1000 y 1/2000).

#### Cálculo del ELISA

En primer lugar se transformaron las unidades de absorbancia en el valor "P/N", como indica la casa

fabricante:

1. Se calcula la media de las lecturas de absorbancia de los sueros ( $A_v$ ) y del control negativo ( $\tilde{N}$ ).
2. Se sustrae el valor de  $\tilde{N}$ , a cada media de las muestra ( $P$ ):

$$P = A_v - \tilde{N}$$

3. La razón P/N se calcula:

$$P/N = P/\tilde{N}$$

Los valores de P/N obtenidos para cada dilución del control positivo utilizadas como calibrador, se usaron para construir una curva de referencia. A la dilución más baja del control positivo se le dio, arbitrariamente, un valor de 100 unidades "ELISA" (UAE). Los siguientes valores de la curva fueron de 50, 25 y 12,5 UAE.

La representación de los resultados se hizo tomando P/N versus UAE. Un ejemplo de las curvas obtenidas se encuentra en la Figura 4.

Esta curva se analizó estadísticamente por regresión,

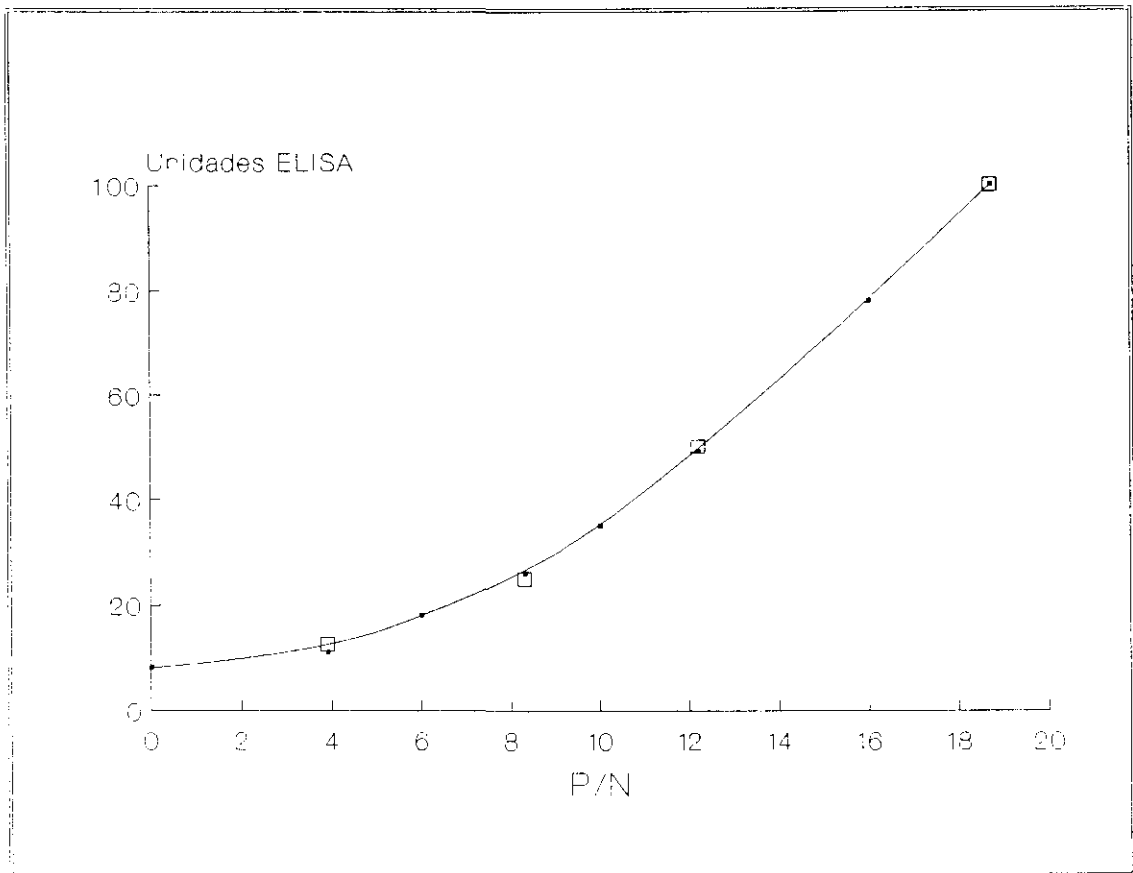


Figura 4: Curva de calibración estandar del "ELISA" en suero.

ajustándose a una ecuación de segundo orden. Estos ajustes siempre dieron un coeficiente de correlación (r) superior a 0,998.

Los resultados de los sueros estudiados se expresaron en Unidades Arbitrarias ELISA (UAE) a partir de las curvas de regresión obtenidas en cada ensayo.

#### Reactividad cruzada

En este estudio se incluyeron tres sueros de pacientes con infección por *Campylobacter laridis* y *Campylobacter jejuni*. En ninguno de estos sueros se detectaron anticuerpos.

#### **3.7. ANALISIS ESTADISTICO.**

Para valorar los resultados obtenidos se han utilizado las siguientes pruebas estadísticas:

El test de chi cuadrado y el test exacto de Fisher para tablas de contingencia.

El análisis de regresión lineal, la F de Snedecor y el test de la t de Student.

4. RESULTADOS.



Se diagnosticó infección por *H. pylori* cuando el cultivo, Gram o histología fué positivo.

Aplicando este criterio, de los 79 pacientes estudiados, se detectó *H. pylori* en 63 casos (prevalencia de la muestra 80%).

#### 4.1. ENDOSCOPIA.

En relación con el diagnóstico endoscópico el total de enfermos se clasificó en siete grupos según el tipo de patología que presentaban (Tabla IX).

*H. pylori* se detectó en 6 (75%) de los enfermos con gastritis (Tabla X) y no se halló en los enfermos con gastritis atrófica.

De los 28 enfermos con úlcera duodenal, 24 (86%) tenían *H.pylori*, ascendiendo a 89% la tasa de detección de *H. pylori* en los enfermos con úlcera gástrica.

Aunque con menor número de enfermos, *H. pylori* también se asocia con duodenitis (71%). En los pacientes considerados endoscópicamente como normales, la infección por *H. pylori*

T A B L A IX

PACIENTES ESTUDIADOS SEGUN EL DIAGNOSTICO ENDOSCOPICO

<u>DIAGNOSTICO</u>	<u>Nº</u>	<u>%</u>
Gastritis	8	10
Gastritis atrófica (Tipo A)	2	3
Úlcera Duodenal	28	35
Úlcera gástrica	18	23
Duodenitis	7	9
Carcinoma	1	1
Normal	15	19

T A B L A X

DIAGNOSTICO ENDOSCOPICO Y PRESENCIA DE  
HELICOBACTER PYLORI (HP)

ENDOSCOPIA	Nº	HP +		HP -	
		<u>Nº</u>	<u>(%)</u>	<u>Nº</u>	<u>(%)</u>
Gastritis	8	6	(75)	2	(25)
Gastritis atrófica					
(Tipo A)	2	0		2	(100)
Úlcera duodenal	28	24	(86)	4	(14)
Úlcera gástrica	18	16	(89)	2	(11)
Duodenitis	7	5	(71)	2	(29)
Carcinoma	1	0		1	(100)
Normales	15	12	(80)	3	(20)

es del 80%. Hay que tener en cuenta, que es aquí donde se da la mayor discordancia entre el diagnóstico endoscópico y el histológico (Tabla XI). De los 15 enfermos diagnosticados endoscópicamente como normales, sólo 3 fueron histológicamente normales, y no se detectó en ellos *H. pylori* (Figura 5).

#### 4.2. HISTOLOGIA.

El estudio histológico fue realizado en 77 biopsias antrales ya que dos fueron inadecuadas. El resultado de este estudio queda recogido en la Tabla XII y Figura 6.

La gastritis histológica (Gastritis crónica) estaba presente en 72 (94%) de las biopsias antrales estudiadas, una tuvo un diagnóstico de carcinoma y cuatro fueron histológicamente normales.

De las 72 que presentaban gastritis crónica, 25 tenían también atrofia glandular y 22 metaplasia intestinal.

*H. pylori* se detectó en 61 (85%) de las biopsias que tenían diagnóstico histológico de gastritis crónica, mientras

T A B L A    X I

DIAGNOSTICO HISTOLOGICO Y PRESENCIA DE H.PYLORI  
(HP) EN LAS BIOPSIAS ANTRALES CON DIAGNOSTICO  
ENDOSCOPICO DE NORMAL

ENDOSCOPIA	Nº	HISTOLOGIA	Nº	HP +
Normal	15	GCI	9	9
		GCA	3	3
		Normal	3	0

GCI= Gastritis sin actividad

GCA=     "     activa

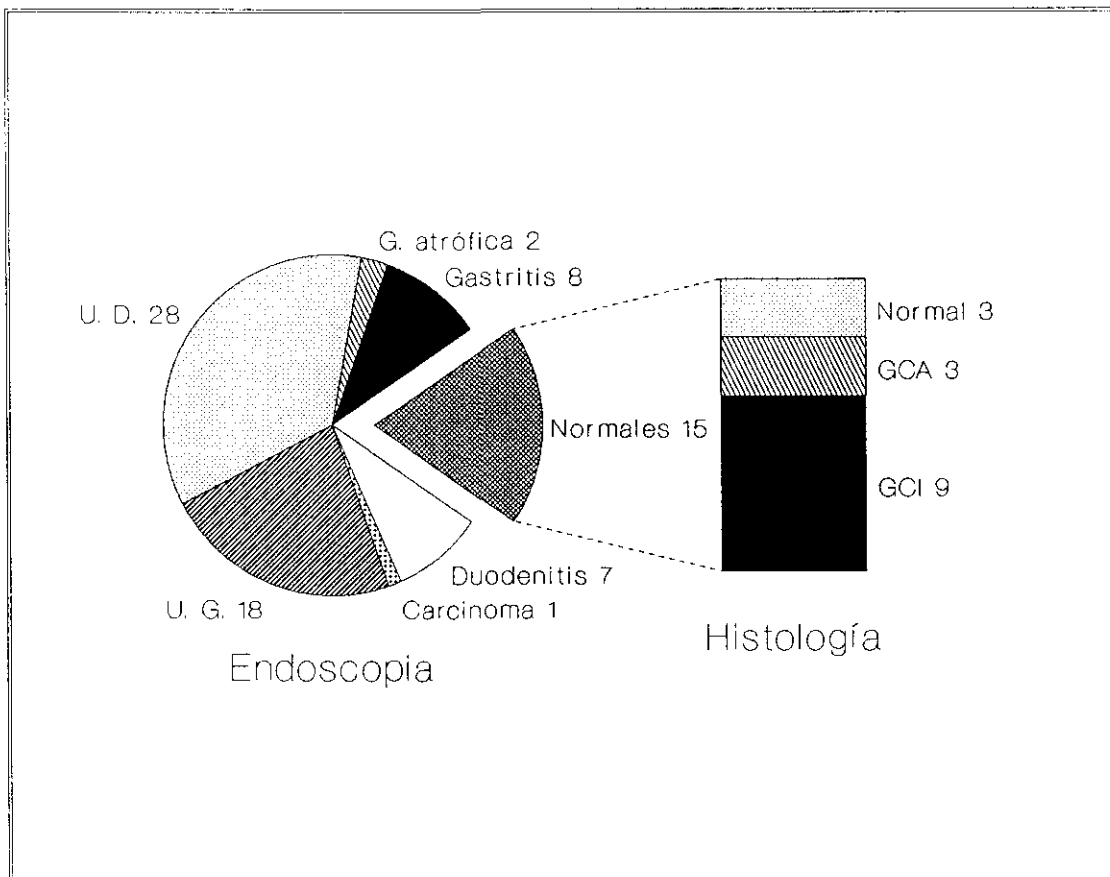


Figura 5: Distribución de los pacientes según diagnóstico endoscópico. Discordancia entre la endoscopia e histología en el diagnóstico de normal.

T A B L A    X I I

DISTRIBUCION DE LOS PACIENTES SEGUN SU  
DIAGNOSTICO HISTOLOGICO

	<u>Nº</u>	<u>%</u>
GASTRITIS CRONICA	72	94
. con atrofia	25	33
. con metaplasia	22	29
CARCINOMA	1	1
NORMALES	4	5
	<hr/>	<hr/>
	77	100

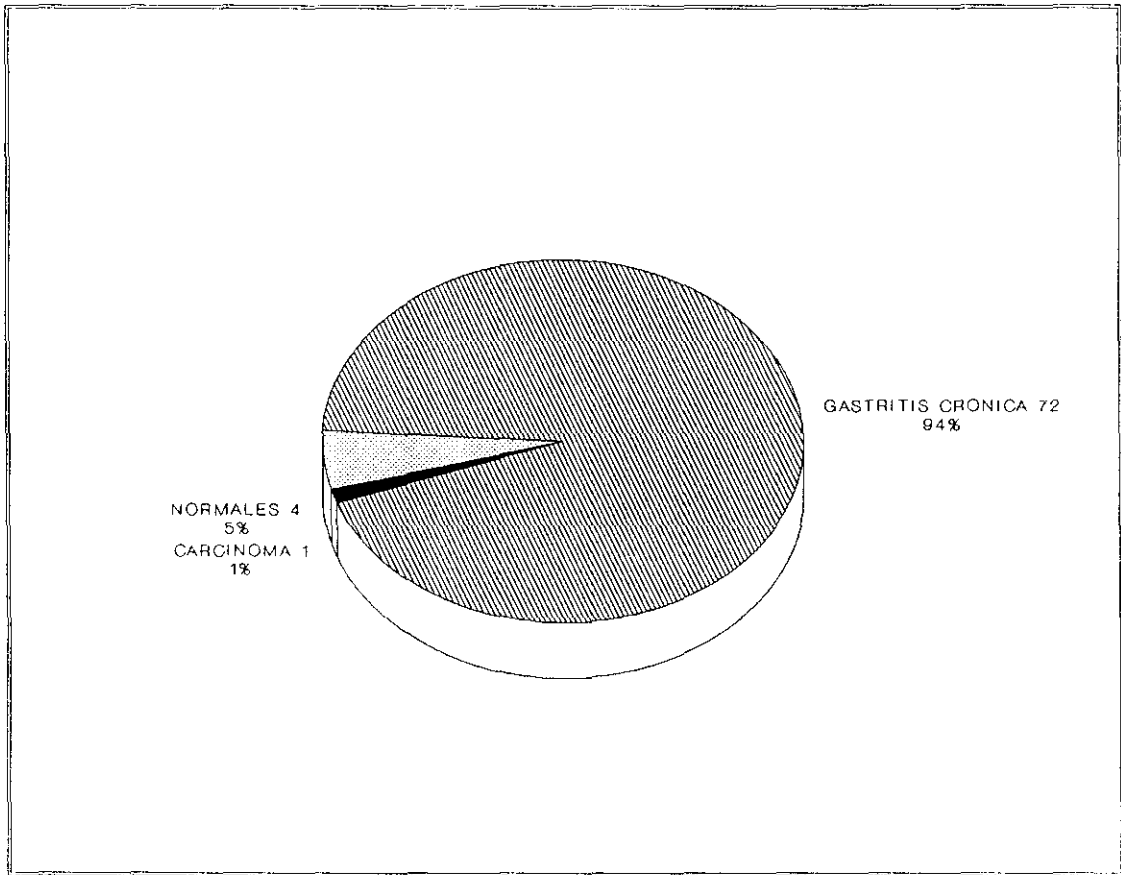


Figura 6: Distribución de los pacientes según su diagnóstico histológico.



que sólo fue positiva en 1 caso diagnosticado histológicamente como normal (Tabla XIII y Figura 7).

Aplicando el "test" del chi cuadrado, se puede afirmar que la presencia de *H. pylori* se asocia, significativamente, a la existencia de gastritis crónica con una confianza mayor del 99,7% ( $p < 0,003$ ).

Cuando se analiza la presencia de *H. pylori* y tipo de gastritis crónica (Tabla XIV y Figura 8), vemos que no existe asociación entre *H. pylori* y actividad. Tampoco se encuentra asociación entre *H. pylori* y atrofia glandular (Tabla XV) y *H. pylori* y metaplasia intestinal (Tabla XVI).

En el estudio histológico de la biopsia antral se pudo observar, la ausencia de *H. pylori* en las áreas con metaplasia intestinal aunque hubiera colonización en la superficie adyacente del epitelio.

La investigación de *H. pylori* en la biopsia antral mediante hematoxilina-eosina, y Warthin Starry se hizo en 69 pacientes, resultando positiva en 52 (75%). La sensibilidad de estas tinciones como pruebas diagnósticas fué del 88% (Tabla XXV).

Con la tinción de hematoxilina-eosina y Warthin Starry,

T A B L A XIII

DIAGNOSTICO HISTOLOGICO Y PRESENCIA DE H. PYLORI (HP)

	Nº	HP + Nº (%)	HP - Nº (%)
GASTRITIS CRONICA	72	61 (85)*	11 (15)
. con atrofia	25	19 (76)	6 (24)
. con metaplasia	22	17 (77)	5 (23)
CARCINOMA	1	0	1 (100)
NORMAL	4	1 (25)	3 (75)

\* p < 0,05

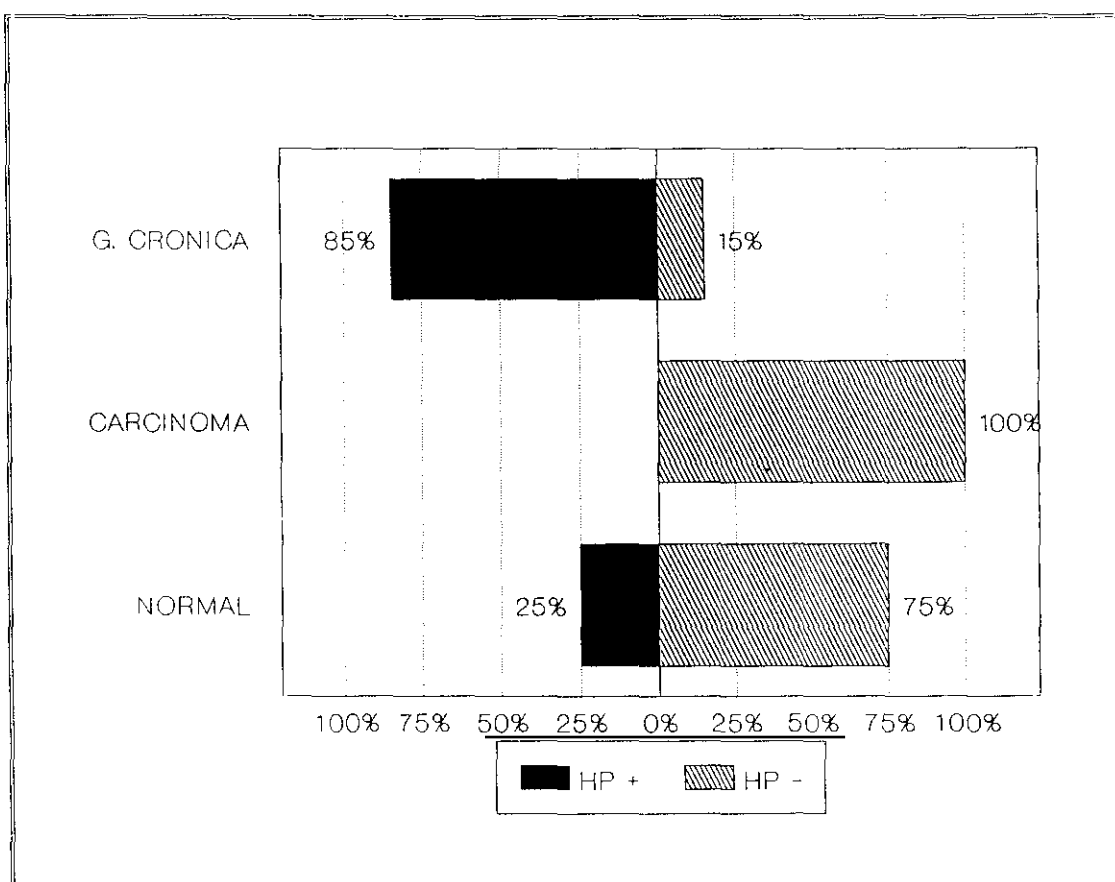


Figura 7: Diagnóstico histológico y presencia de *H. pylori*.

T A B L A    X I V

HELICOBACTER PYLORI Y TIPO DE  
GASTRITIS CRONICA

GASTRITIS CRONICA	Nº	HP +		HP -	
		Nº	(%)	Nº	(%)
. activa	38	34	(90)	4	(10)
. inactiva	34	27	(79)	7	(21)
	<hr/>				
	72				

p > 0,05

T A B L A    X V

HELICOBACTER PYLORI Y ATROFIA GLANDULAR

GASTRITIS CRONICA	Nº	HP +	HP -
. con atrofia	25	19 (76)	6 (24)
. sin atrofia	47	42 (89)	5 (11)

p > 0,05

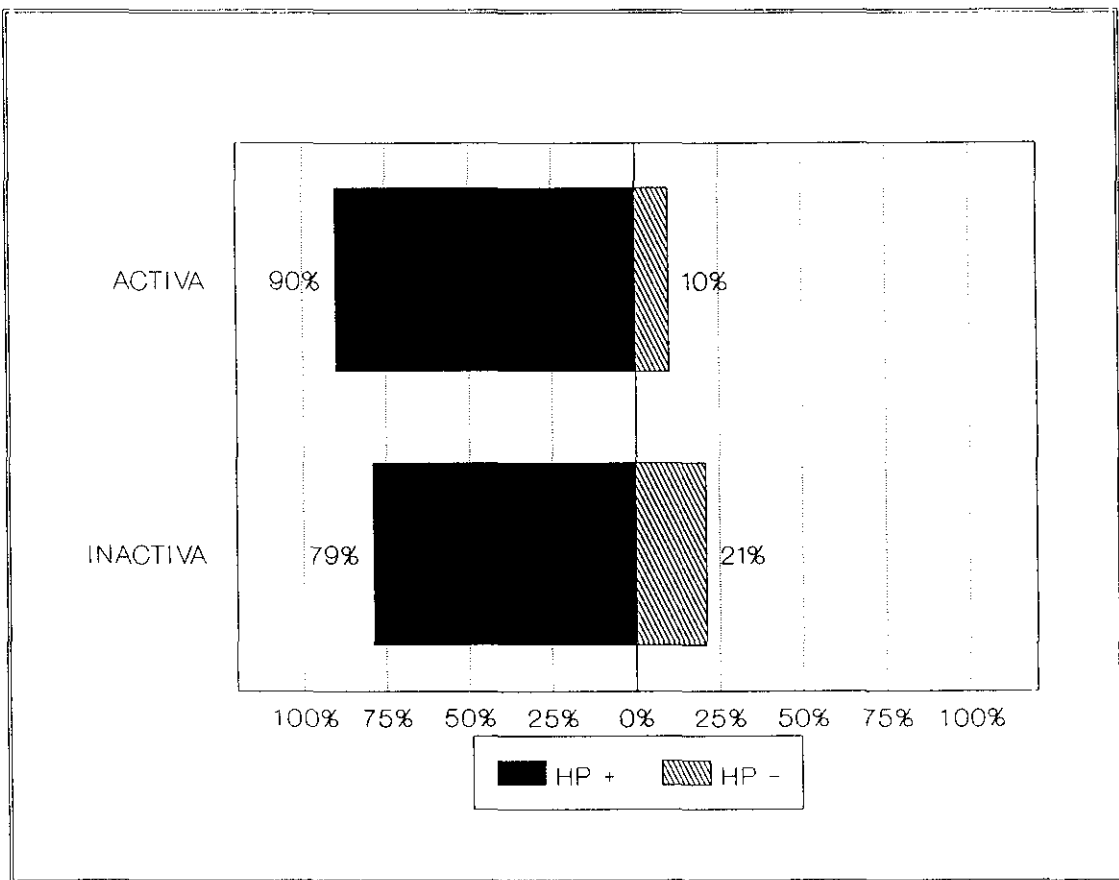


Figura 8: Correlación de *H. pylori* con respecto a la actividad histológica de la gastritis.

T A B L A    X V I

HELICOBACTER PYLORI Y METAPLASIA INTESTINAL

GASTRITIS CRONICA	Nº	HP +	H P -
. con metaplasia	22	17 (77)	5 (23)
. sin metaplasia	50	44 (88)	6 (12)

p > 0,05

podimos observar la presencia de estructuras bacterianas de aspecto curvado, o en "S" que se encontraban en íntimo contacto con la superficie del epitelio gástrico (Figura 9 y Figura 10).

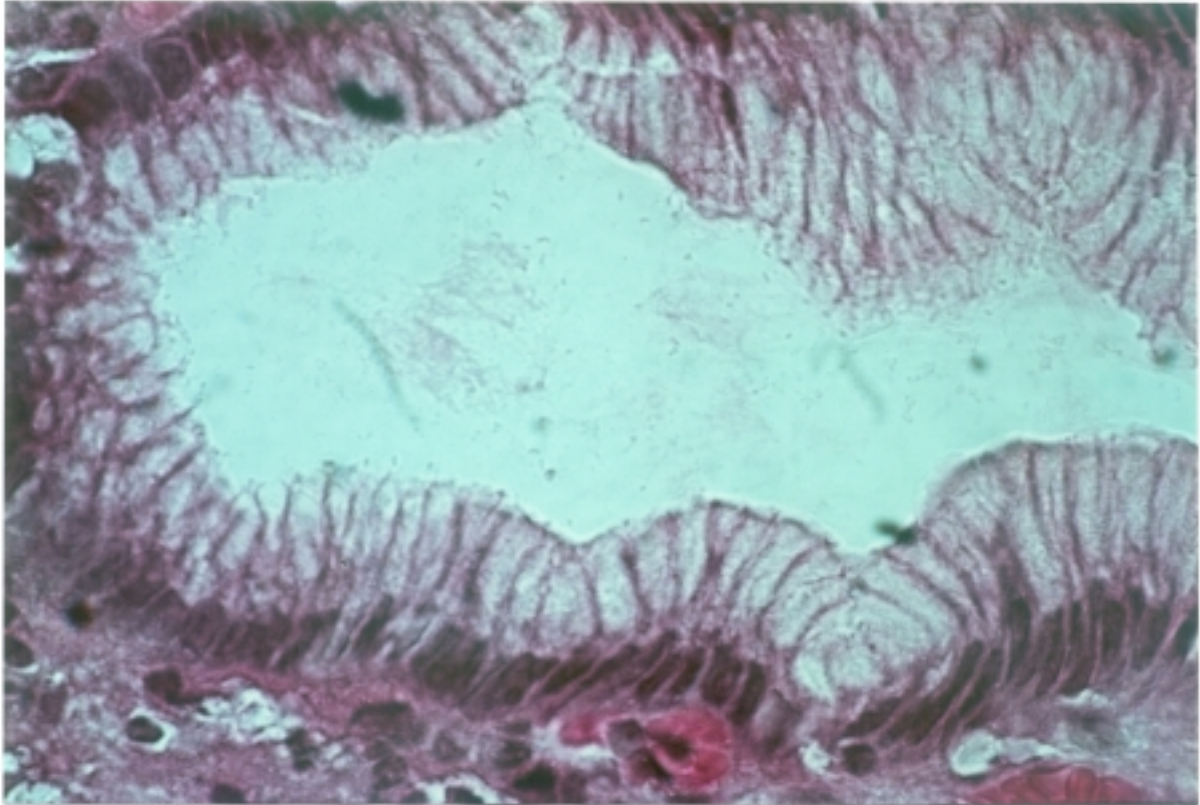
Los tipos de células inflamatorias observadas más frecuentemente en la proximidad de las áreas de adherencia de los gérmenes han sido linfocitos y células plasmáticas. En las formas activas hemos detectado la presencia de polimorfonucleares, en cualquier caso el infiltrado inflamatorio encontrado es el que se detecta normalmente en una gastritis crónica inespecífica (Figura 11).

La tinción de Giemsa modificado cuando se hizo, ayudó a confirmar la presencia de bacilos curvados o en "S" (Figura 12).

#### **4.3. ENDOSCOPIA - HISTOLOGIA.**

Cuando se correlaciona el diagnóstico endoscópico con el diagnóstico histológico de gastritis antral (Tabla XVII) vemos que existe una alta asociación entre la gastritis





**Figura 9:** Tinción con hematoxilina-eosina de mucosa antral. Bacilos curvados de morfología compatible con *H. pylori* en la luz foveolar y en contacto con la superficie epitelial (x 1000).

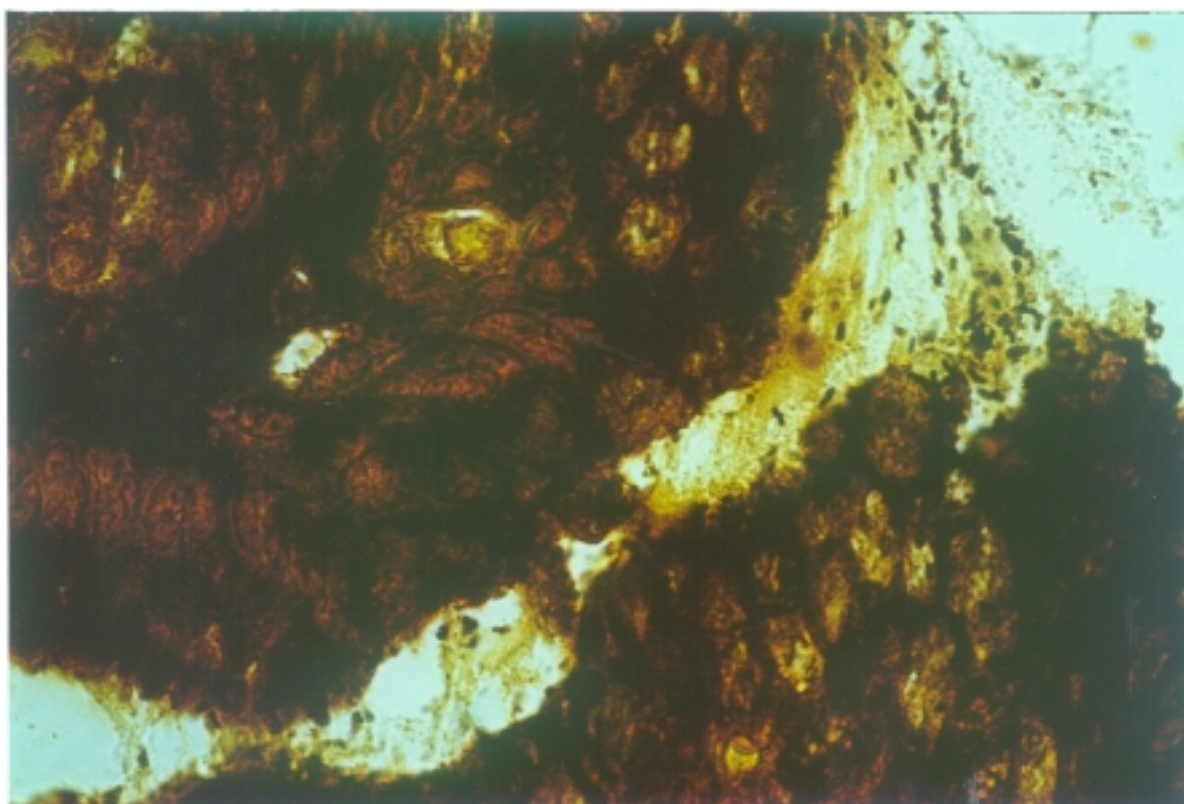


Figura 10: Tinción de Warthin-Starry de la mucosa antral. Abundantes bacilos curvados compatibles con *H.pylori* en íntimo contacto con la capa de moco y el epitelio superficial gástrico (x 1000).

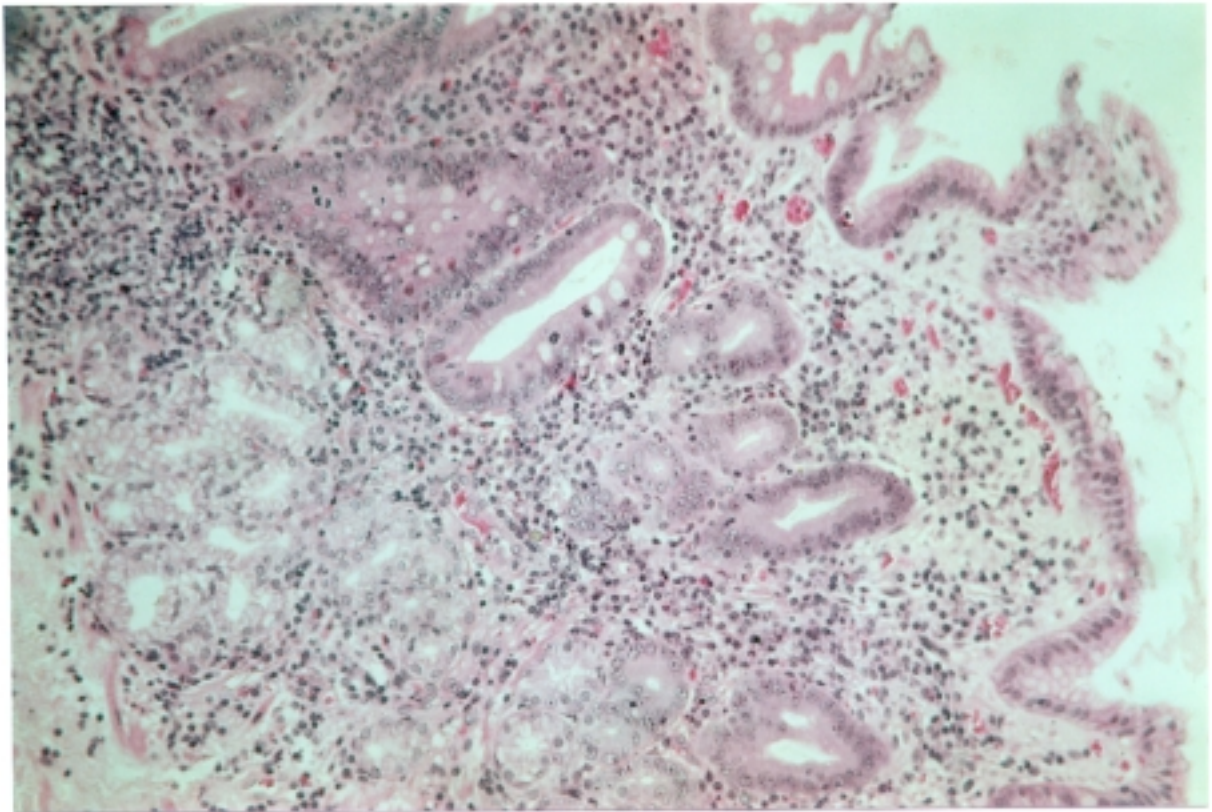
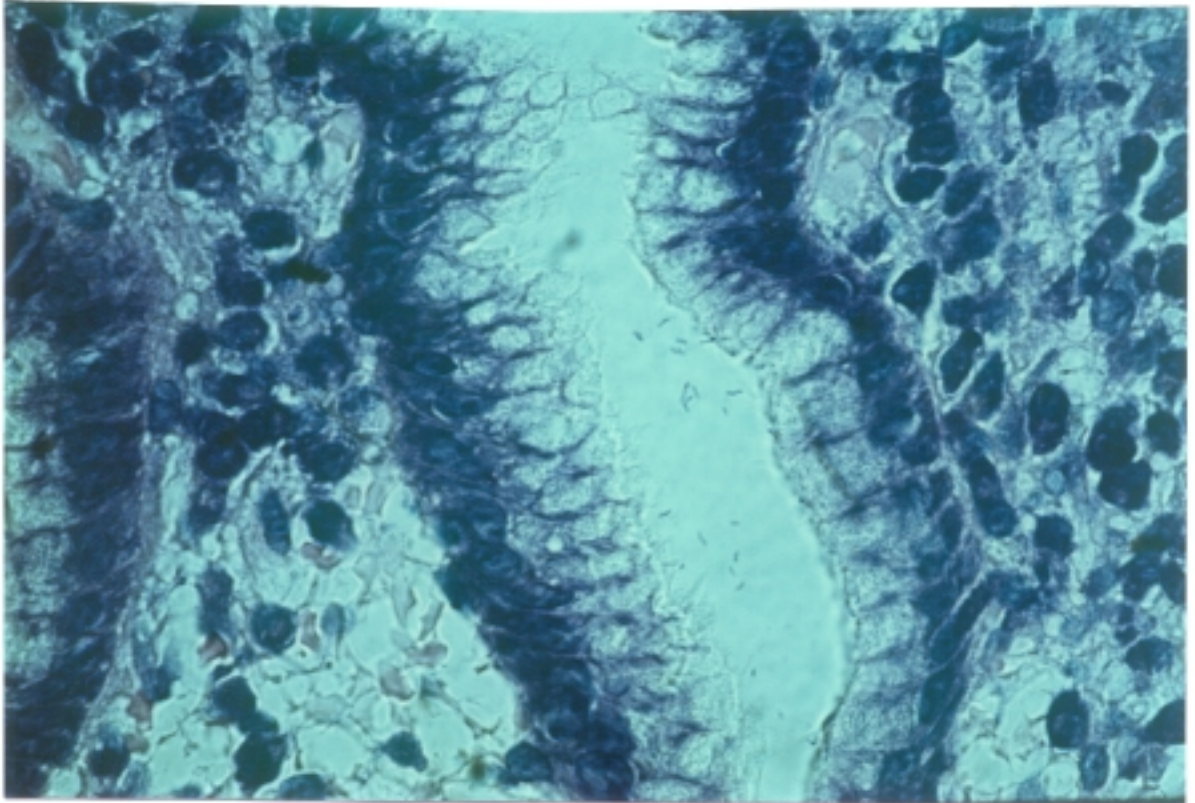


Figura 11: Mucosa antral: Gastritis crónica (HE x 40).





**Figura 12:** Tinción de Giemsa de la mucosa antral. Bacilos curvados compatibles con *H. pylori* en la luz foveolar y en contacto con la superficie epitelial (x 1000).

T A B L A      X V I I

CORRELACION ENTRE EL DIAGNOSTICO ENDOSCOPICO

Y GASTRITIS HISTOLOGICA

<u>ENDOSCOPIA</u>	<u>GASTRITIS HISTOLOGICA</u>			
	N°		N°	(%)
Gastritis	8	.....	8	(100)
Gastritis atrófica				
(Tipo A)	2	.....	2	(100)
Úlcera duodenal	28	.....	27	(96)
Úlcera gástrica	18	.....	17	(94)
Duodenitis	7	.....	6	(86)
Carcinoma	1	.....	0	(0)
Normales	15	.....	12	(80)

antral y las distintas patologías.

La mayor discordancia se observa en el diagnóstico endoscópico de normal, ya que 12 (80%) presentan gastritis histológicas.

Por otro lado, uno de los cuatro pacientes histológicamente normales, endoscópicamente tuvo diagnóstico de úlcera duodenal. Por ello en la Figura 13 se presenta la distribución de los pacientes estudiados según diagnóstico histológico y/o endoscópico.

En la Tabla XVIII podemos ver la asociación de *H. pylori* con las distintas patologías teniendo en cuenta los dos criterios. Resumiendo esta Tabla, podemos decir que de los 76 enfermos que presentaban patología gastroduodenal encontramos *H. pylori* en 63 casos (83%), mientras que en ninguno de los casos normales se pudo demostrar la presencia de microorganismos. Hay que destacar, la alta prevalencia del germen en los casos de gastritis, úlcera duodenal, úlcera gástrica y duodenitis, especialmente gastritis y úlcera duodenal con un 90 y 89% de hallazgos positivos siendo, sin embargo, negativa la presencia de *H. pylori* en los casos de gastritis atrófica (tipo A) y carcinoma (Figura 14).

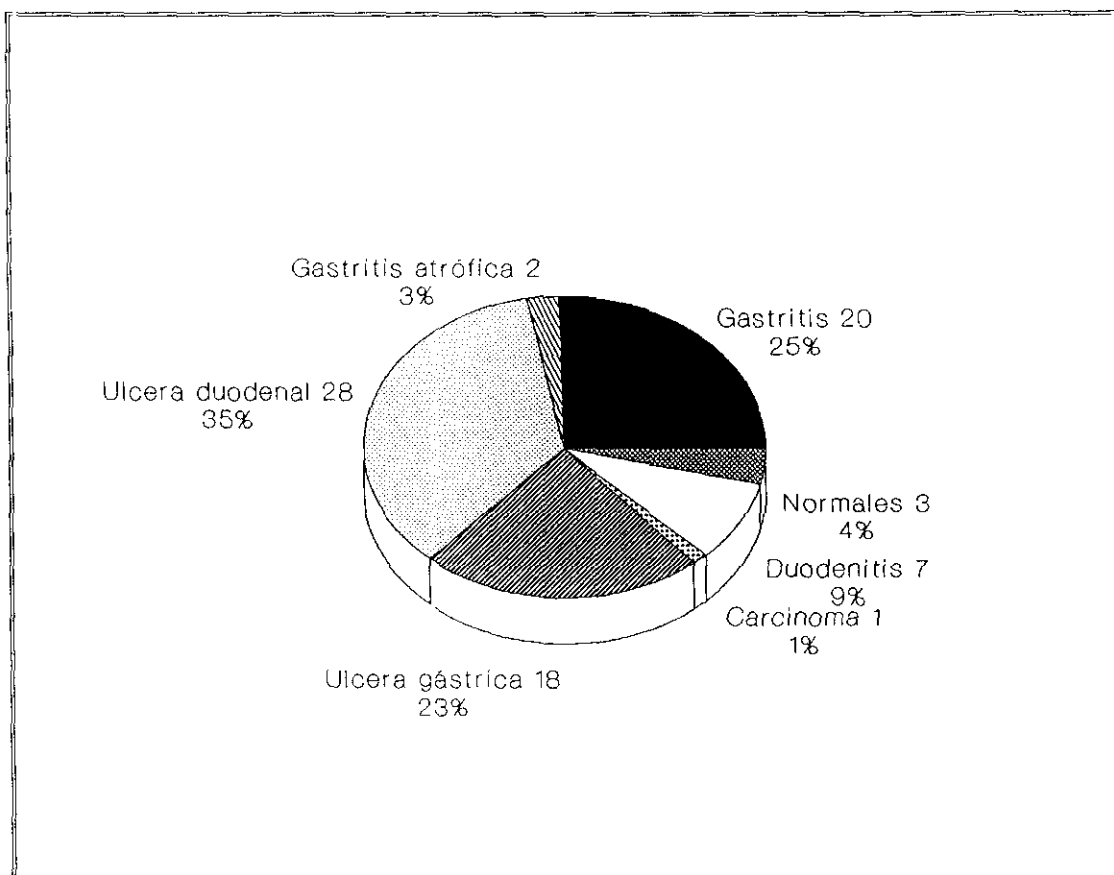


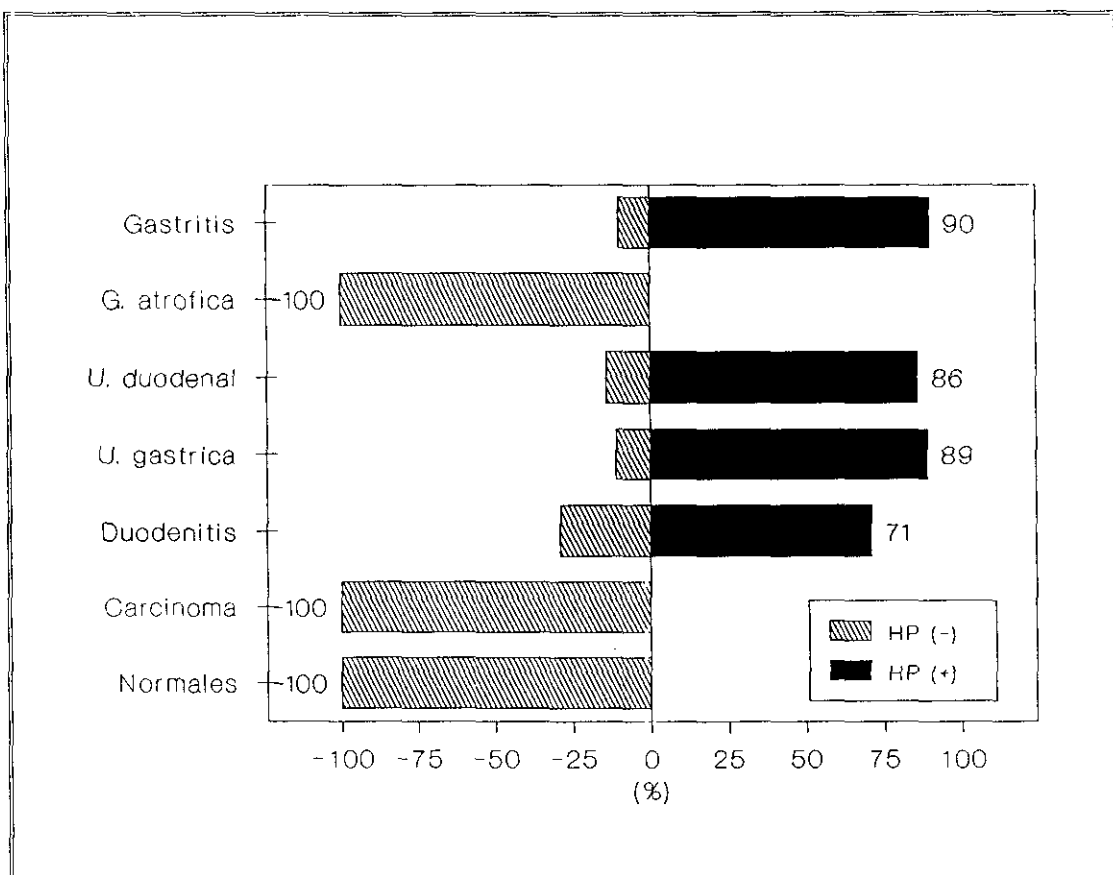
Figura 13: Distribución de los pacientes según diagnóstico histológico y/o endoscópico.

T A B L A      XVIII

PRESENCIA DE H.PYLORI EN LAS DISTINTAS PATOLOGIAS  
(SEGUN DIAGNOSTICO ENDOSCOPICO Y/O HISTOLOGICO)

	Nº	HP +	
		<u>Nº</u>	<u>(%)</u>
Gastritis	20	18	(90)
Gastritis atrófica	2	0	
Úlcera duodenal	28	24	(86)
Úlcera gástrica	18	16	(89)
Duodenitis	7	5	(71)
Carcinoma	1	0	
Normales	3	0	
	<hr/>	<hr/>	
	79	63	





**Figura 14:** Presencia de *H. pylori* en los distintos grupos patológicos, según diagnóstico - endoscópico y/o histológico.

Comparando estadísticamente por medio del "test" exacto de Fisher cada grupo de patología con el grupo control, la presencia de *H. pylori* se asocia significativamente con gastritis, úlcera duodenal y úlcera gástrica ( $p < 0,05$ ).

Resumiendo los resultados obtenidos, puede decirse que *H. pylori* se asocia de manera muy significativa a la presencia de reacción inflamatoria gastroduodenal, ya sea ésta la única lesión de la mucosa o se encuentre asociada a una úlcera péptica.

#### 4.4. UREASA INMEDIATA.

El CLO test se realizó en 54 enfermos, siendo positivo en 37 (67%).

La sensibilidad como técnica diagnóstica fue del 77% con una especificidad del 100% (Tabla XIX y Figura 15).

De las 37 muestras que fueron positivas, 22 lo habían sido en la primera hora, y 26 (70%) a las 3 h., el resto se fueron positivando a lo largo de las 24 h. (Tabla XX).

Se observó una correlación positiva entre el número de

T A B L A    X I X

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS  
DISTINTAS PRUEBAS DE UREASA

	<u>SENSIBILIDAD</u>	<u>ESPECIFICIDAD</u>
Clo test ≤ 24 h.	77	100
Urea AB ≤ 24 h.	56	94
Urea 43°C ≤ 24 h.	81	100

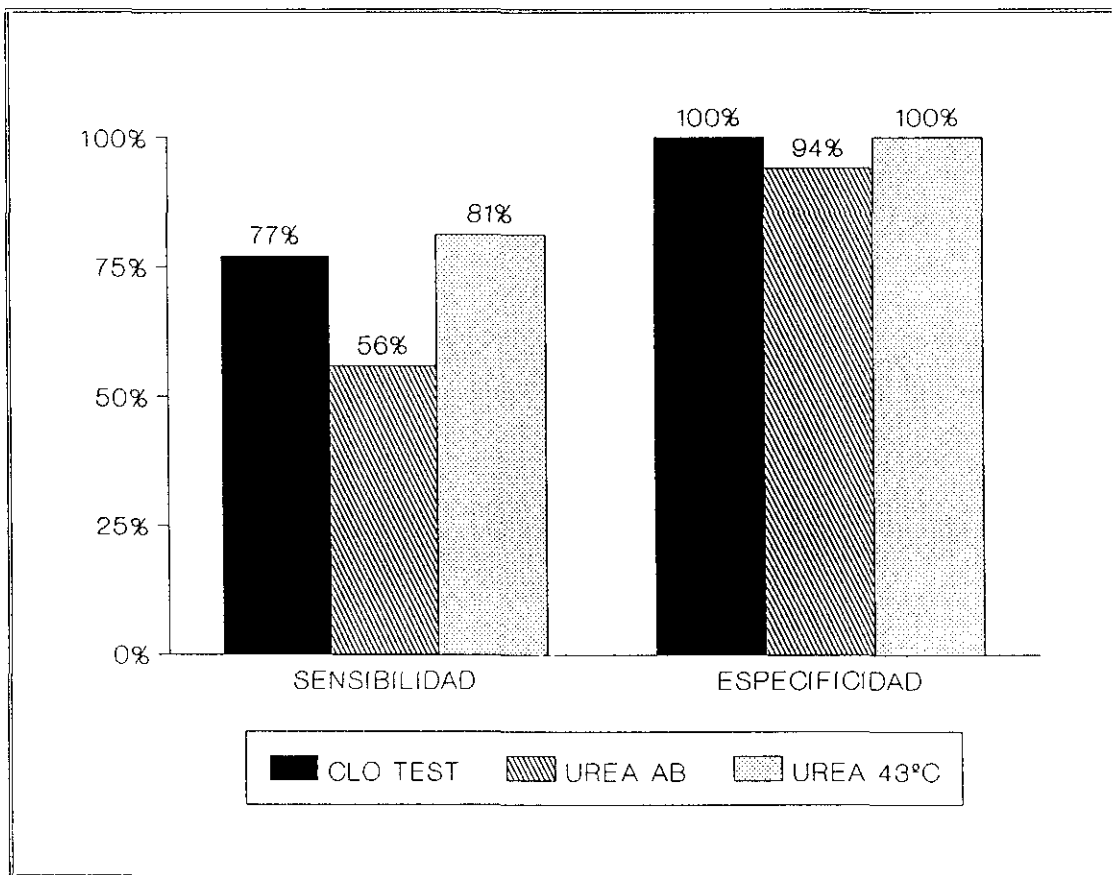


Figura 15: Sensibilidad y especificidad de las pruebas de la ureasa para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en mucosa gástrica.

T A B L A    X X

TIEMPO AL QUE SE POSITIVIZA EL CLO TEST

TIEMPO DE POSITIVIDAD	CLO TEST	
	Nº	%
5'	2	(5,4)
15'	11	(29,7)
1 h	22	(59,45)
3 h	26	(70,27)
24 h	37	(100)

bacterias que se vieron en el Gram y el tiempo requerido para la positivación del CLO test ( $p < 0,05$ ) (Figura 16).

#### 4.5. MICROBIOLOGIA.

##### 4.5.1. TINCION DE GRAM.

De los 79 pacientes estudiados se encontró *H. pylori* por medio de la tinción de Gram en 51 casos (64,5%). El Gram fué positivo en 13 casos en que el cultivo fué negativo, y en 3 ocasiones el cultivo fué positivo y el Gram negativo.

En la primera parte del estudio, en que el Gram se hizo por duplicado, los resultados con el Gram-frotado fueron mejores que con el Gram-triturado (Tabla XXI), no sólo en lo que se refiere al número de positivos 77% frente a un 59%, sino en la cantidad de bacterias que se veían, mayor generalmente en el Gram-frotado.

Con la tinción de Gram se pudieron observar los típicos bacilos curvados o espirilares gramnegativos, en muchos casos agrupados a lo largo de las fibras de moco. (Figura 17). La

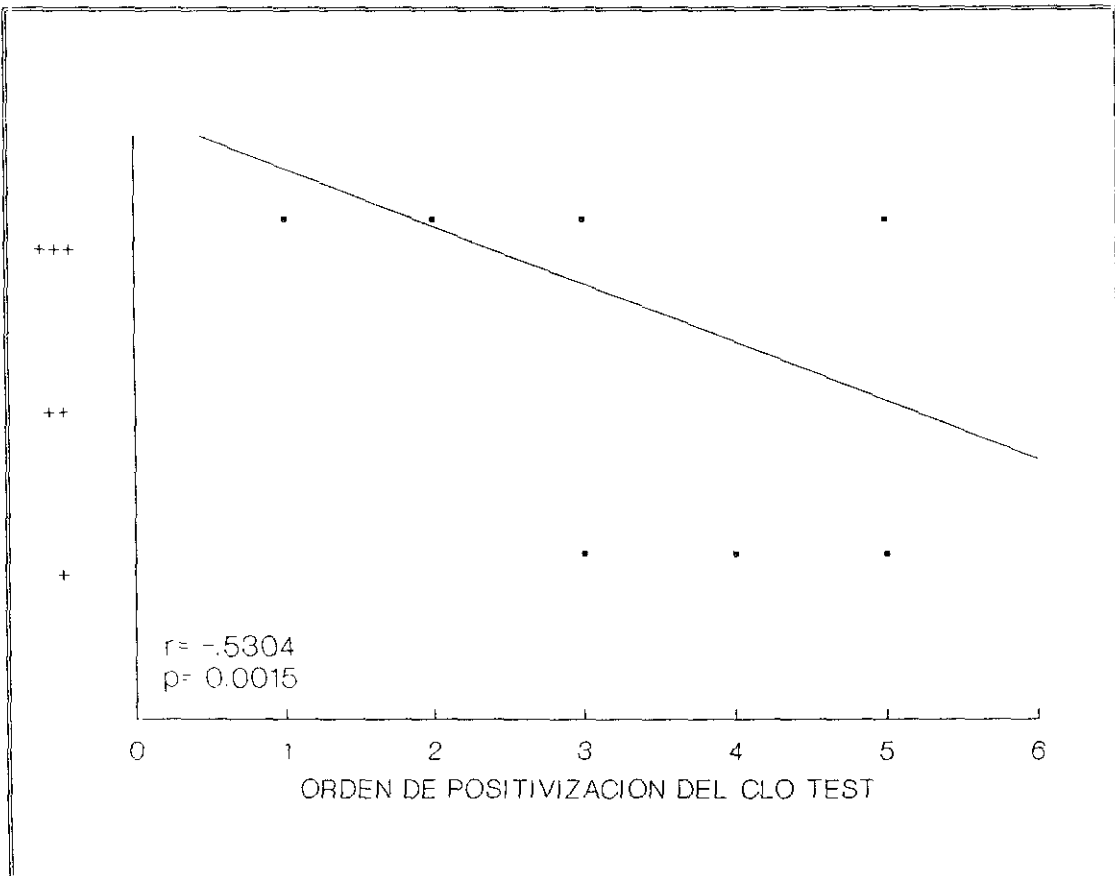


Figura 16: Correlación entre el nº de bacterias curvadas vistas en el Gram de la biopsia antral y el tiempo que tarda en positivizarse el CLO test.

T A B L A    X X I

COMPARACION DE LOS DOS METODOS UTILIZADOS  
EN LA TINCION DE GRAM

	<u>HP +</u>	
	<u>Nº</u>	<u>%</u>
Gram (Frotado)	17	77
Gram (Triturado)	13	59



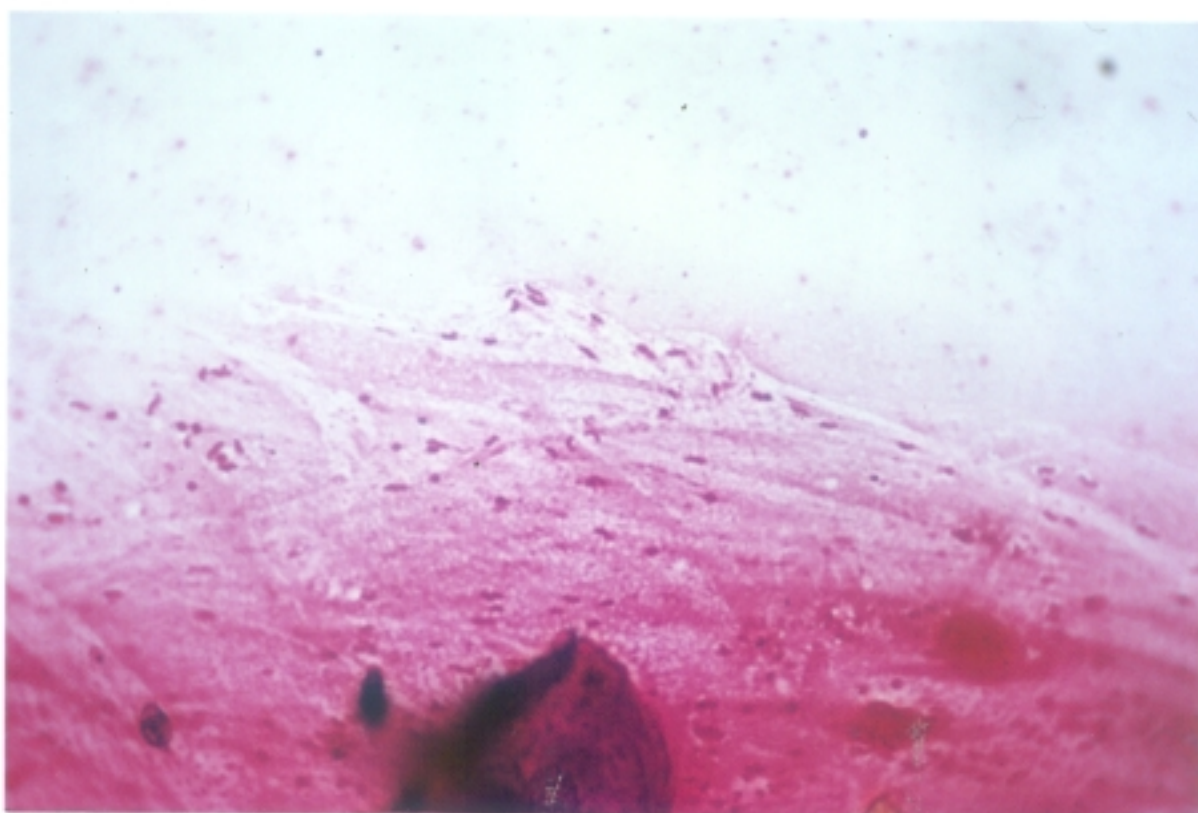


Figura 17: Tinción de Gram de una biopsia antral. se observan bacilos curvados característicos de *H. pylori* (x 1000).

sensibilidad del Gram como técnica diagnóstica fué del 81%.

#### 4.5.2. CULTIVO.

Los resultados globales del cultivo fueron los siguientes: de los 79 pacientes, se aisló *H. pylori* en 42 (53%).

Al analizar comparativamente los medios de cultivo utilizados (Tabla XXII), vemos que con el AS se aislan el 43% de las cepas cultivadas. La tasa de aislamiento se incrementa con el SK y el VNA, 79% en los dos casos, en general el crecimiento fue más rápido y denso en el SK.

Las contaminaciones fueron altas en AS (50%) y mucho menores en los medios con inhibidores, SK y VNA. Cuando *H. pylori* se aisló únicamente en un medio, fué en 6 ocasiones el SK y en 7 el VNA.

La sensibilidad del AS es baja (29%) asciende a (52%) tanto con el SK como con el VNA y si consideramos los tres medios de cultivo alcanza el 67% (Tabla XXIII y Figura 18).

Al analizar la influencia de los distintos tratamiento

T A B L A      XXII

COMPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS

Medios	HP +		HP -		CONTAMINADO	
	<u>Nº</u>	<u>(%)</u>	<u>Nº</u>	<u>(%)</u>	<u>Nº</u>	<u>(%)</u>
AS	18	(43)	3	(7)	21	(50)
SK	33	(79)	2	(5)	7	(17)
VNA	33	(79)	6	(14)	3	(7)

AS= Agar sangre

SK= Agar sangre + inhibidores de Skirrow

VNA= Agar sangre + vancomicina, nalidixico y anfotericina

T A B L A    X X I I I

SENSIBILIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

MEDIOS	SENSIBILIDAD
	(%)
AS	29
SK	52
VNA	52
AS+SK+VNA	67

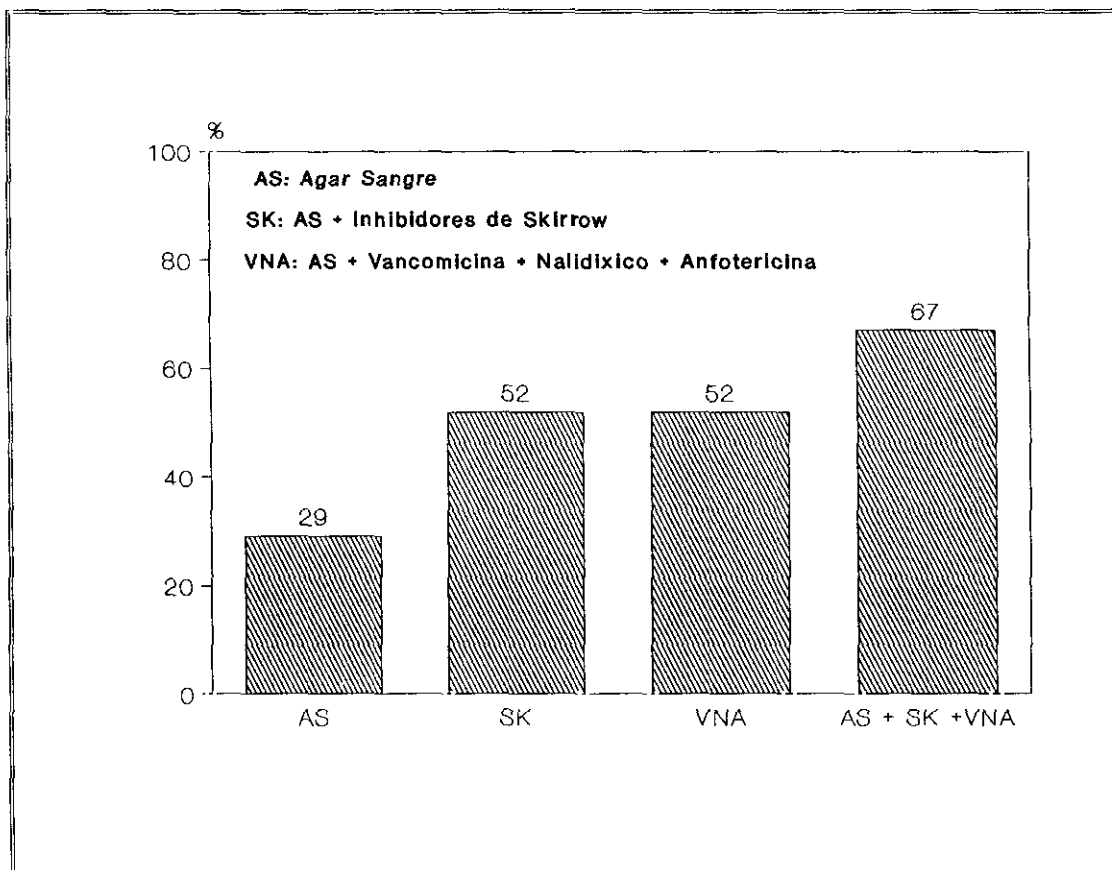


Figura 18: Sensibilidad de los medios de cultivo utilizados para aislar *H pylori*.

que llevaban los enfermos, sobre el cultivo de *H. pylori* (Tabla XXIV) vemos, que de los 45 enfermos con tratamiento, se detectó *H. pylori* en 36 cultivándose en 21, por lo que el porcentaje de detección por cultivo es del 58%, mientras que en los 27 pacientes sin tratamiento la tasa de detección por cultivo aumentó al 70%. A pesar de estos datos no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

#### 4.5.3. UREASA TARDIA.

La prueba de la ureasa tardía a temperatura ambiente y efectuando la lectura en un tiempo  $< 24$  h. tuvo una sensibilidad y especificidad del 56 y 94% respectivamente. Estas cifras aumentaron a 81 y 100% cuando se realiza a  $43^{\circ}\text{C}$  (Tabla XXV). Como vemos cuando la temperatura de incubación es  $43^{\circ}\text{C}$  la especificidad es la máxima y la sensibilidad es incluso superior al CLO test.

Contrariamente a lo que ocurre en la ureasa inmediata, no se pudo demostrar correlación entre el número de bacterias vistas en el Gram y el tiempo de positivación de la ureasa tardía (UAB o U $43^{\circ}\text{C}$ ).

T A B L A      XXIV

TRATAMIENTO Y HELICOBACTER PYLORI

	Nº	HP+	Cultivo +	% detectado por cultivo
Con tratamiento	45	36	21	58
. antiácidos	3	3	2	66
. anti H <sub>2</sub>	28	23	13	56
. antiácidos + anti H <sub>2</sub>	14	10	6	60
Sin tratamiento	27	20	14	70

COMPARACIÓN DE LOS METODOS UTILIZADOS EN EL DIAGNOSTICO  
DE H. PYLORI.

La sensibilidad y especificidad de todas las pruebas utilizadas para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* se resume en la Tabla XXV y Figura 19.

La especificidad del cultivo, tinción de Gram e histología es, por definición, del 100%. De estas tres pruebas la mayor sensibilidad (88%) se obtiene por medio de la visualización en los estudios histológicos de microorganismos de morfología compatible con *H. pylori*. Esta sensibilidad sólo es superada por la que se obtiene con el diagnóstico serológico 90%; sin embargo, en este caso, la especificidad es baja (56%), por lo que desde un punto de vista diagnóstico no hay duda de que los mejores resultados se obtienen con la histología. Muy de cerca le sigue la tinción de Gram con un 81% de sensibilidad, y la ureasa tardía cuando se realiza a 43° C que tiene una sensibilidad del 81% y una especificidad muy buena, 100%.

Las dificultades que presenta el aislamiento de *H. pylori* hace que la sensibilidad del cultivo sea menor 67%,



T A B L A    XXV

COMPARACION DE DIFERENTES METODOS PARA EL  
DIAGNOSTICO DE H.PYLORI

<u>PRUEBA</u>	<u>SENS.</u>	<u>ESP.</u>	<u>VPP</u>	<u>VPN</u>
	(%)	(%)	(%)	(%)
Cultivo	67	100	100	43
Tinción de Gram	81	100	100	57
Histología	88	100	100	59
Ureasa inmediata	77	100	100	39
clo test ≤ 24 h.				
Ureasa tardía				
≤ 24 h.				
- AB*	56	94	97	35
- 43°C	81	100	100	67
IgG (>40 UAE)	90	56	83	71

\* AB= Tª ambiente.

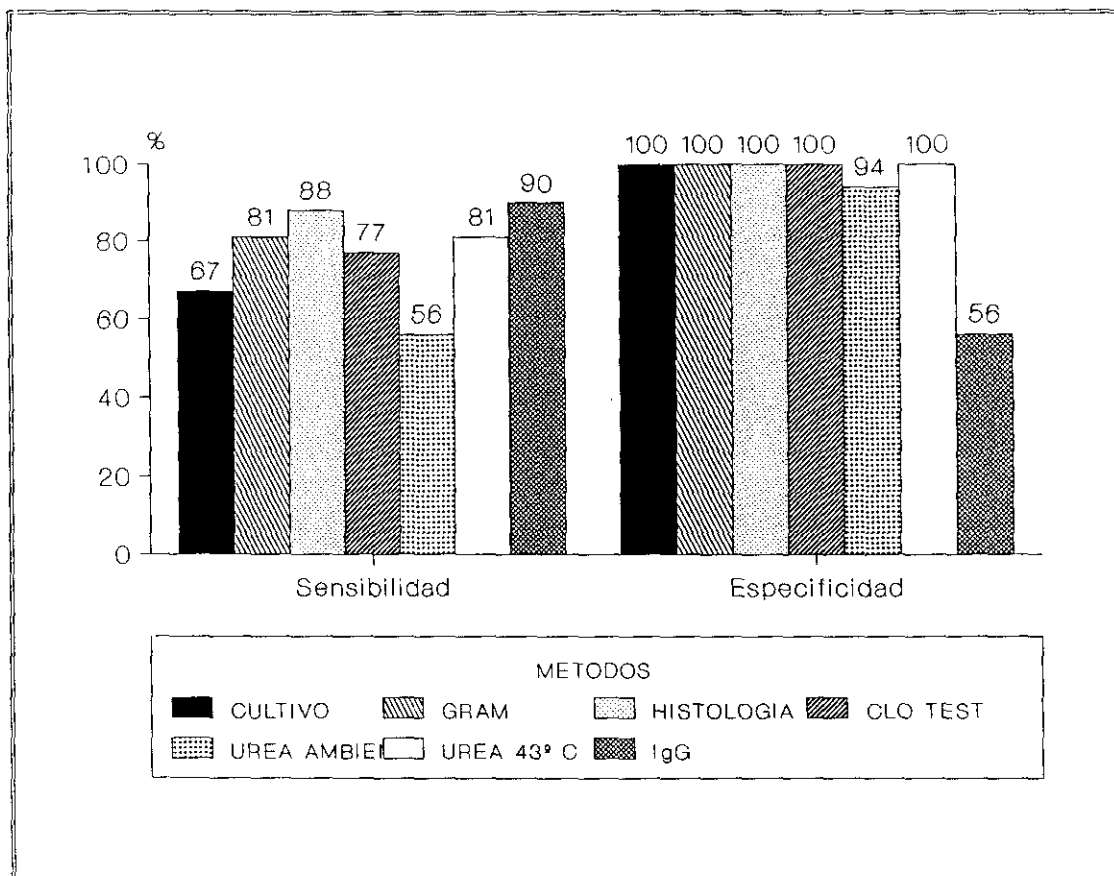


Figura 19: Sensibilidad y especificidad de las pruebas utilizadas para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en mucosa antral.

aunque no hay duda que es la técnica de referencia, y es la única que nos permite aislar a este microorganismo y conocer su sensibilidad antimicrobiana.

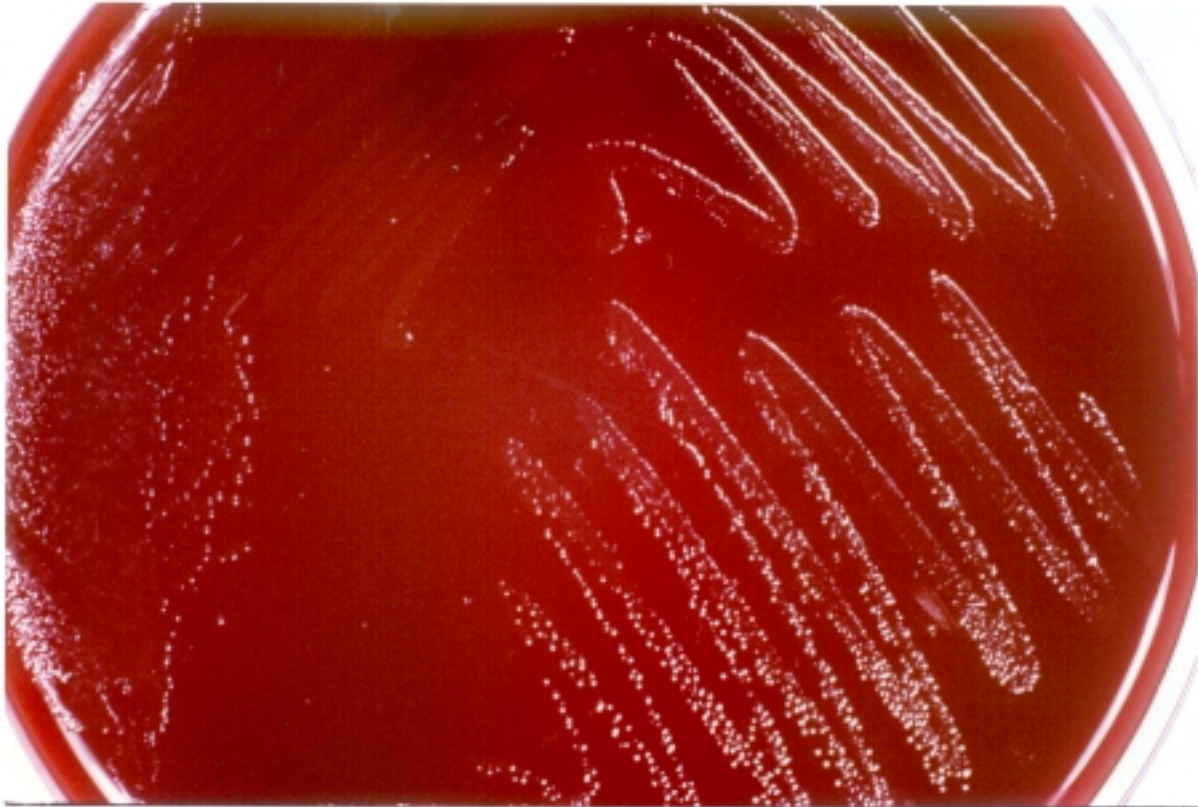
#### 4.5.4. CARACTERISTICAS MICROBIOLÓGICAS DE H. PYLORI.

*H. pylori* creció en atmósfera microaerofílica a 37° C, necesitando en todos los casos un período de incubación de 3 a 7 días y una atmósfera húmeda.

Las colonias son pequeñas, translúcidas y grises, con un tamaño que oscila entre 0,5 - 2 mm de diámetro. En agar-sangre producen una débil hemólisis beta (Figura 20).

Las 42 cepas aisladas tuvieron una actividad catalasa, ureasa y citocromo-oxidasa fuertemente positiva, fueron sensibles a cefalotina (30 mcg) y resistentes a ácido nalidixico (30 mcg).

La tinción de Gram de los microorganismos aislados en el cultivo, revela la presencia de bacilos gramnegativos, con morfología curvada o en "U" pero más alargados y polimorfos que los que se observan en la biopsia (Figura 21).



**Figura 20: Cultivo de H.pylori en Agar Sangre a los 4 días de incubación.**

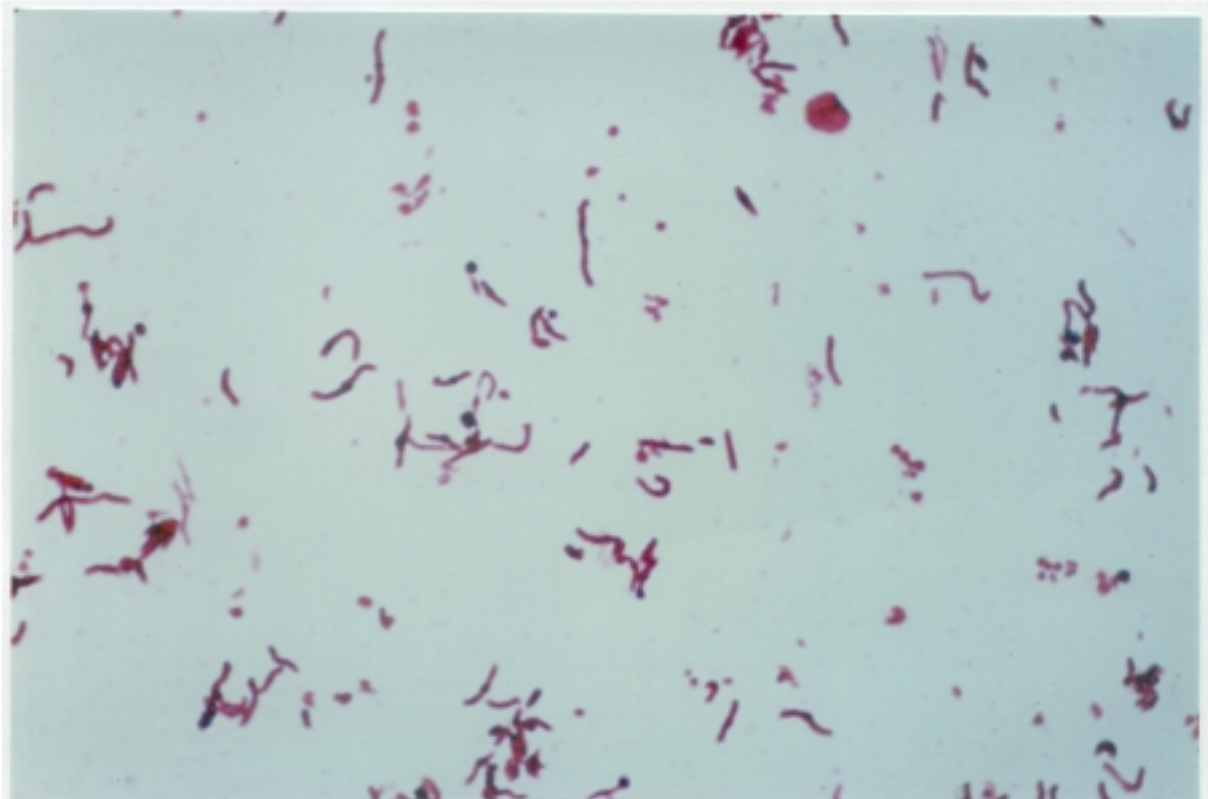


Figura 21: Tinción de Gram de un cultivo de *H. pylori* a los 4 días de incubación (x 1000).

En los cultivos viejos, (en muchos casos al segundo pase), el bacilo pierde su morfología ondulada, adoptando forma cocoide (Figura 22) como le ocurre a *Campylobacter jejuni*. Estas formas cocoides no son viables, con lo que se limita la posibilidad de otros estudios.

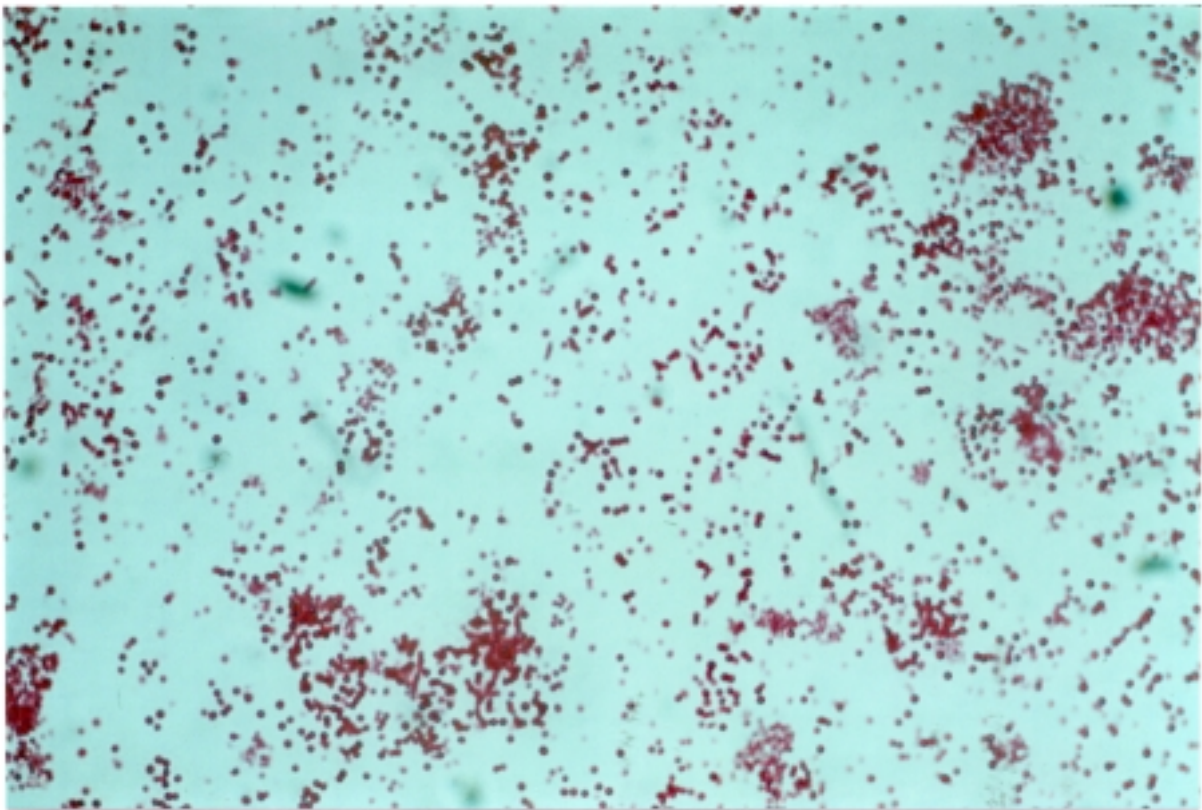
#### 4.5.5. SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

Debido a la pérdida tan rápida de viabilidad, sólo hemos podido estudiar la sensibilidad antimicrobianos en 28 aislados. La sensibilidad de estos aislados frente a las diferentes antimicrobianas ensayados, fué del 100% excepto en el caso del metronidazol que fué del 89% (Tabla XXVI).

#### 4.6. DIAGNOSTICO SEROLOGICO.

##### Valor umbral

Para el establecimiento del valor umbral se comparó un



**Figura 22:** Tinción de Gram de un cultivo viejo de -  
**H. pylori** donde se observa su morfología  
cocoide (x 1000).

T A B L A      XXVI

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS AISLADOS DE H. PYLORI

ANTIMICROBIANA	CARGA DEL DISCO (mcg)	SENSIBILIDAD (%)
Ampicilina	10	100
Eritromicina	15	100
Fosfomicina	50	100
Gentamicina	10	100
Tetraciclina	30	100
Norfloxacina	10	100
Metronidazol	5	89



grupo de 20 enfermos diagnosticados, histológica y bacteriológicamente de infección por *H. pylori*, con un grupo control que se supuso sin anticuerpos (voluntarios sanos de 10-20 años).

Se observó que la mayor parte del grupo control poseía una tasa de anticuerpos inferior a 40 UAE, mientras que el de enfermos lo superaban ampliamente. (Figura 23).

#### 4.6.1. INVESTIGACION DE ANTICUERPOS EN LOS ENFERMOS.

Se estudió la presencia de anticuerpos en 30 pacientes. Los resultados de nuestro estudio quedan reflejados en la Figura 24 y Tabla XXVII.

Como puede observarse, 19 pacientes a los que se les había detectado *H. pylori* tenían un nivel de anticuerpos superior a 50 UAE, mientras, que sólo en dos con *H. pylori* positivo el título fué inferior a 20 UAE.

Uno de estos sueros pertenecía a un paciente de 83 años, y es conocido como en las personas de edad avanzada se observa un descenso en el nivel de anticuerpos.

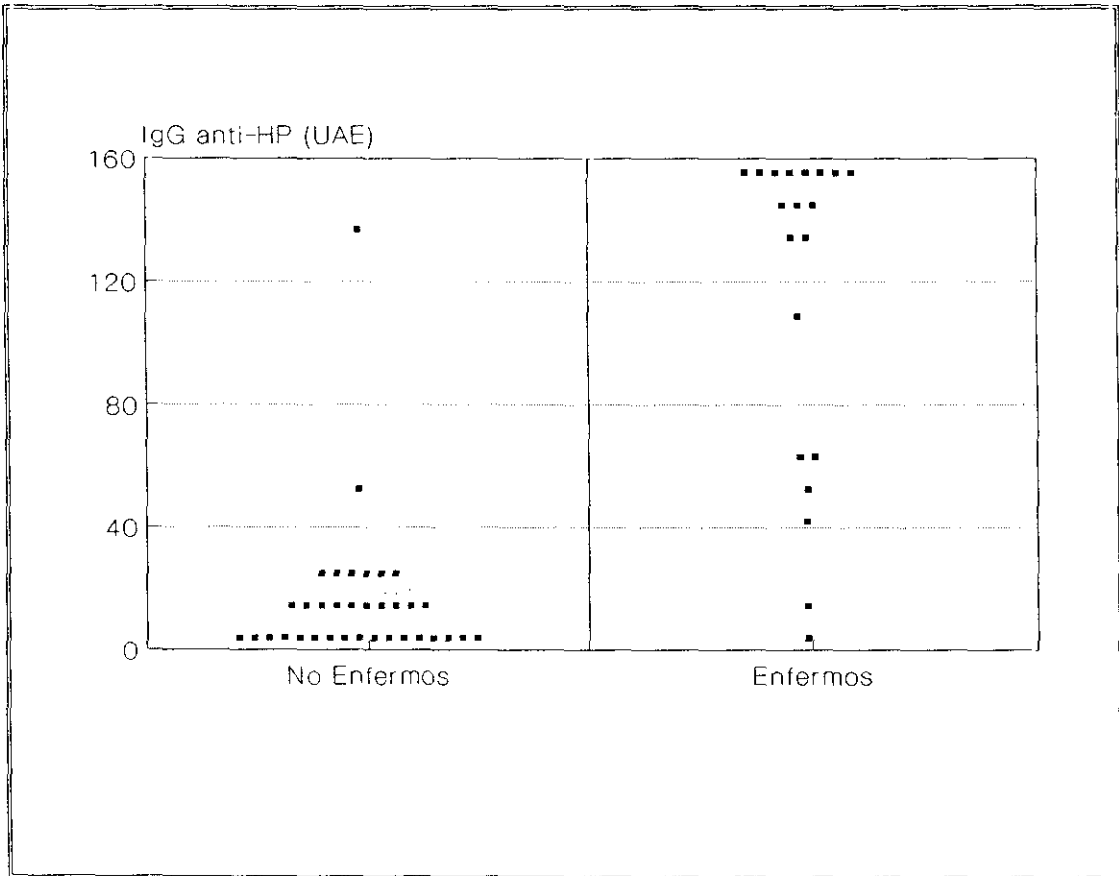


Figura 23: Valor umbral. Nivel de IgG anti HP en los enfermos y el grupo control sano.

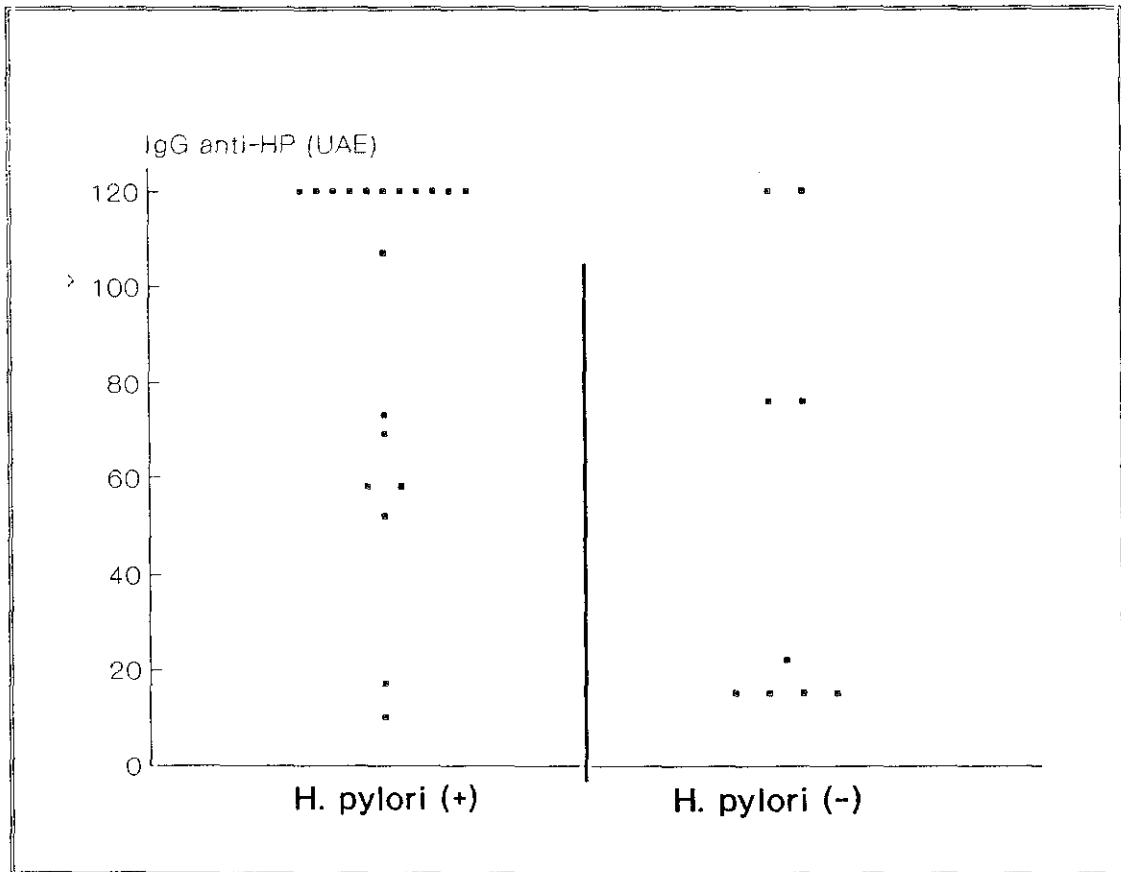


Figura 24: Tasa de anticuerpos y presencia de H. pylori en los enfermos.

T A B L A XXVII

RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS SUEROS DE LOS ENFERMOS

	<u>UAE</u>	<u>NUMERO DE SUEROS</u>	
		HP +	HP -
Entre	10 - 30	2	5
"	31 - 50	0	0
"	51 - 70	4	0
"	71 - 90	1	2
"	91 - 110	1	0
	> 110	13	2

UAE= Unidades Arbitrarias ELISA.

De los 9 enfermos en los que no se detectó *H. pylori*, 5 presentaron un título inferior a 25 UAE, mientras que en los cuatro restantes este fué superior a 75 UAE. Por otro lado, 3 de estos 4 enfermos tenían un diagnóstico histológico de Gastritis crónica activa y al cuarto no se le pudo hacer la histología por no ser adecuada la muestra. Aunque sólo sea una hipótesis es probable, ateniéndonos al diagnóstico histológico, que en los 3 enfermos con gastritis crónica activa, la serología haya sido la única técnica que ha detectado la presencia de *H. pylori*, y si la cuarta biopsia no fue adecuada para diagnóstico histológico es posible que tampoco lo fuese para la detección de *H. pylori* y por eso fuese negativa.

Como puede observarse en la Figura 24, el valor umbral que se estableció anteriormente en 40 UAE también es válido para separar los enfermos con *H. pylori* positivo de los que no lo presentan.

Teniendo en cuenta este valor umbral, se calcula la sensibilidad y especificidad de la técnica como método diagnóstico (Tabla XXVIII).

Si comparamos los resultados obtenidos con el resto de

T A B L A      XXVIII

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA  
TECNICA COMO METODO DIAGNOSTICO

	HP +	HP -
IgG anti HP +	19	4
IgG anti HP -	2	5
Sensibilidad	90%	
Especificidad	56%	
VPP	83%	
VPN	71%	

los métodos diagnósticos utilizados (Tabla XXV), vemos que la sensibilidad de la serología es muy buena 90%, superior incluso a la histología 88%. La especificidad es más baja 56%, por lo que su utilidad como método diagnóstico se ve limitada.

#### **4.7. SEROEPIDEMIOLOGIA DE H. PYLORI EN NUESTRO MEDIO.**

##### **4.7.1. ANTICUERPOS EN POBLACION SANA.**

Con objeto de conocer la prevalencia de *H. pylori* en la población sana de nuestro medio se han estudiado 161 sueros de voluntarios sanos, 126 eran donantes de sangre y 35 estudiantes de formación profesional.

La población sana estaba formada por 79 varones y 82 mujeres con un rango de edad de 14 a 65 años. Se hicieron 5 grupos por edades: 10-20, 21-30, 31-40, 41-50 y mayores de 51 años.

El porcentaje de sueros positivos aumenta significativamente con la edad, desde un 5,7% para el grupo

de 10-20 años, hasta un 78,1% para los mayores de 51 años (Figura 25). Si comparamos el nivel medio de IgG para cada grupo de edad se observan resultados similares (Figura 26).

El grupo de 10-20 años presenta un nivel medio de anticuerpos de 22'6 UAE, en el grupo de 31-40 años se alcanza 50,3 UAE hasta ascender a 118 UAE para los mayores de 51 años.

Se estudiaron estadísticamente estos resultados por medio del análisis de regresión lineal, con el que se correlacionó la edad media de cada grupo frente a la frecuencia de sueros positivos y al nivel medio de IgG anti HP (UAE), obteniéndose las rectas de regresión y el coeficiente de correlación que se muestran en la Figura 27. Los valores de r son altos, de lo que se deduce una alta linealidad entre las variables.

No se hallaron diferencias significativas en el nivel de IgG anti-H. pylori por sexo dentro de cada grupo de edad ( $p \geq 0,63$ ) Figura 28.

La información obtenida a través del cuestionario, revela que no existe relación entre el nivel de anticuerpos y la existencia de sintomatología gástrica.



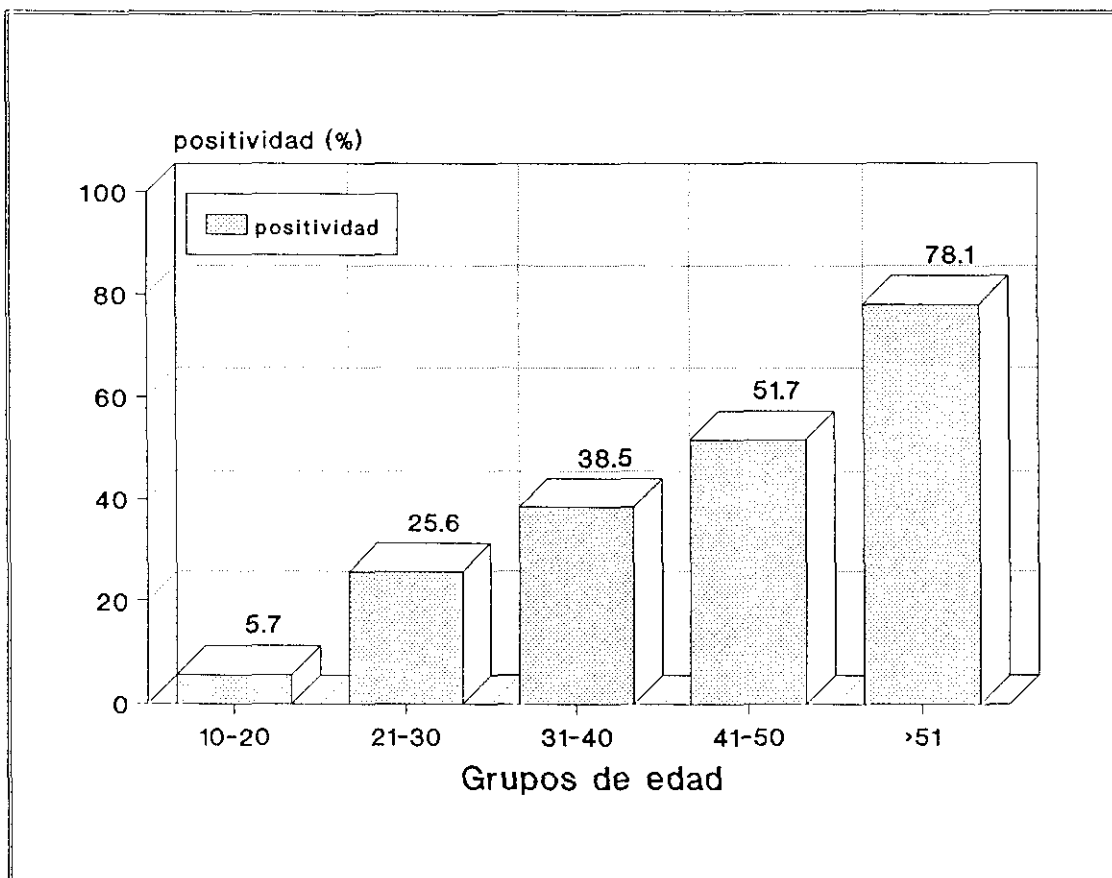


Figura 25: Distribución de sueros positivos, por grupos de edad en población sana.

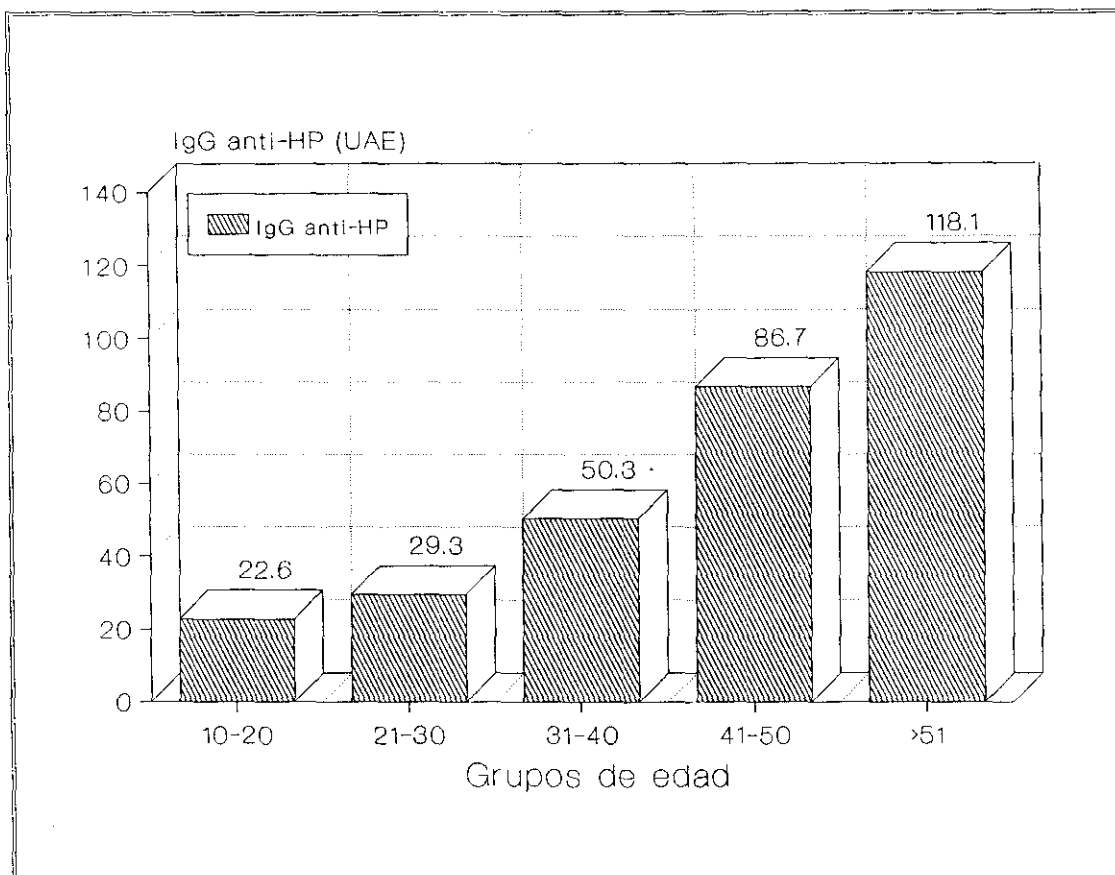


Figura 26: Nivel medio de IgG anti-HP, por grupos de edad en población sana.

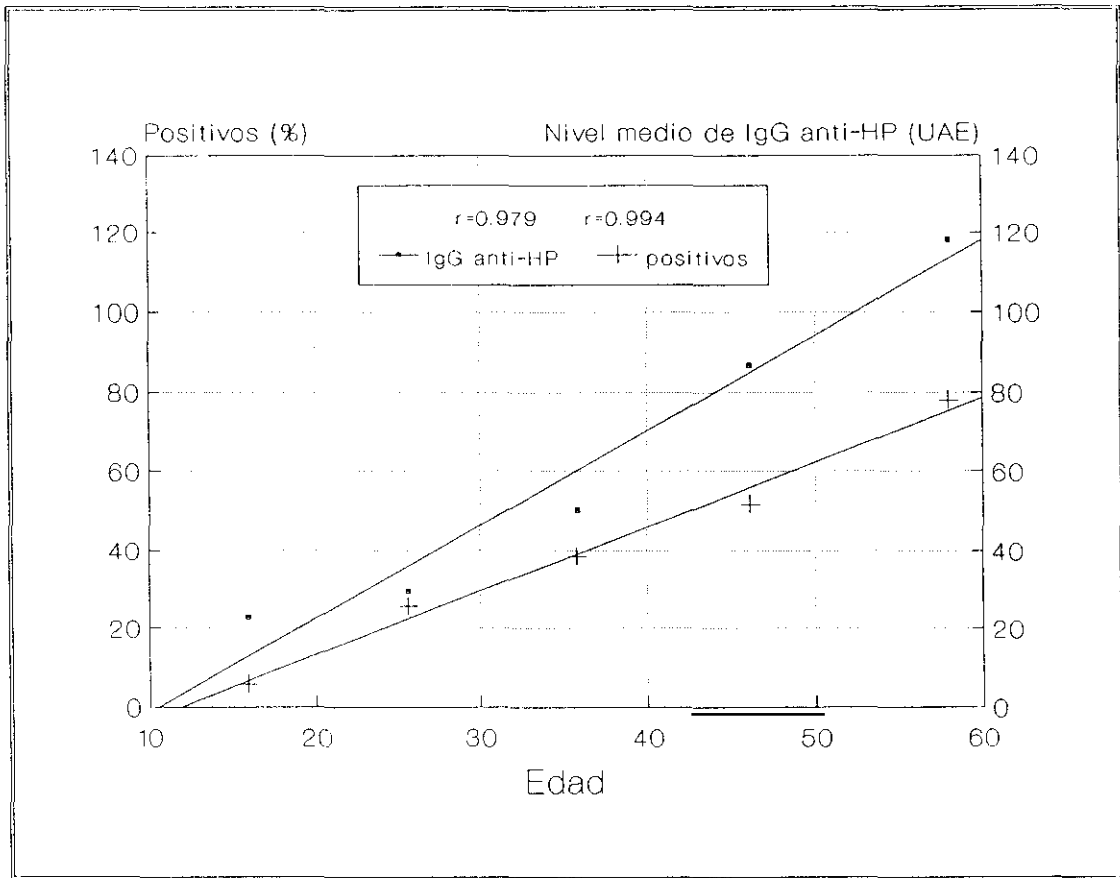


Figura 27: Correlación de la edad de los sanos con la frecuencia de positividades y el nivel medio de IgG anti-HP.

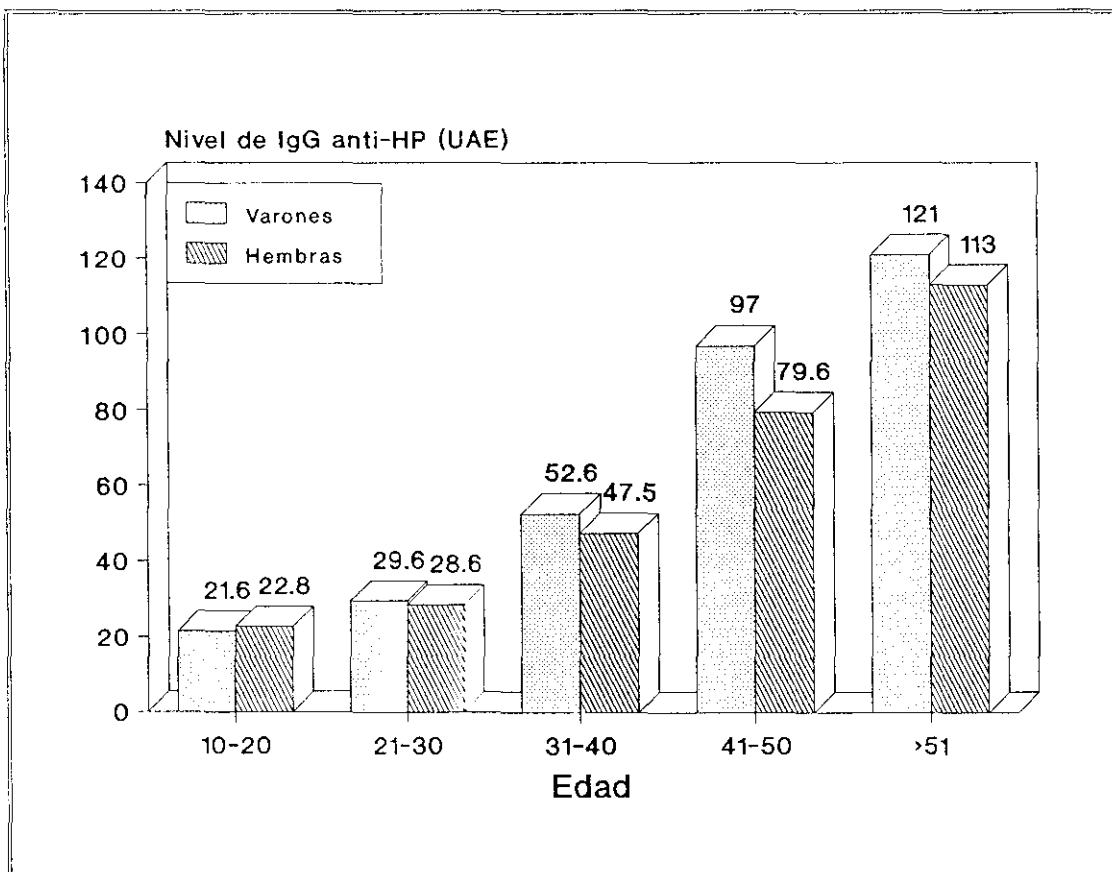


Figura 28: Distribución del nivel medio de IgG anti-HP, por sexos, en cada grupo.

4.7.2. ANTICUERPOS FRENTE A H. PYLORI EN PERSONAL DE GASTROENTEROLOGIA, PACIENTES Y POBLACION SANA.

Hemos determinado el nivel de IgG anti-H. pylori en tres grupos de población con diferente riesgo: personal de gastroenterología, enfermos y donantes de sangre, ya que, si las secreciones gastrointestinales transmiten H. pylori, el personal sanitario de gastroenterología podría ser considerado de alto riesgo para adquirir la infección.

Veintitrés sueros pertenecían al grupo considerado como de alto riesgo y estaba formado por personal médico y de enfermería de gastroenterología (edad media 38,5 años) de varios Hospitales de la Provincia de Alicante. Veinte sueros eran de enfermos con diagnóstico histológico y microbiológico de infección por H. pylori. La edad media de este grupo fué de 64,3 años. Como grupo control se utilizaron los sueros de 58 donantes de sangre. Con ellos se hicieron dos subgrupos en base a la edad: veintiseis tenían de 31 a 40 años, con una edad media de 35,8 años (subgrupo control 1) y treinta y dos eran mayores de 51 años con una edad media de 58 años (subgrupo control 2) (Tabla XXIX).

T A B L A    XXIX

ANTICUERPOS ANTI - H. PYLORI (HP) EN LOS  
GRUPOS ESTUDIADOS Y ANALISIS ESTADISTICO

GRUPO	N	EDAD (años)	POS. (%)	IgG anti-HP (UAE)	P
SUBGRUPO CONTROL 1	26	35.8	38.5	50.3	0.620
ALTO RIESGO	23	38.5	30.4	43.3	<0.001
ENFERMOS	20	64.3	90.0	146	0.264
SUBGRUPO CONTROL 2	32	58.0	78.1	118	

Los anticuerpos anti-*H. pylori* en los grupos estudiados fueron los siguientes:

**Donantes:** En el subgrupo control 1 los sueros positivos y el valor medio de anticuerpos fué de 38,5% y 50,3 UAE respectivamente, mientras que en el subgrupo control 2, estas cifras se elevan a 78,1% y 118 UAE.

**Pacientes:** Cuando investigamos el nivel de anticuerpos en este grupo, obtenemos un 90% de positividad y un nivel medio de anticuerpos de 146 UAE.

**Personal de Gastroenterología:** El porcentaje de sueros positivos fué de 30,4%, siendo la tasa media de anticuerpos de 43,3 UAE.

En la Figura 29, se representa el nivel medio de anticuerpos en los cuatro grupos estudiados.

Al comparar estadísticamente estos resultados, vemos que no hay diferencias significativas entre el subgrupo control 1 y el considerado de alto riesgo ( $p= 0,620$ ).

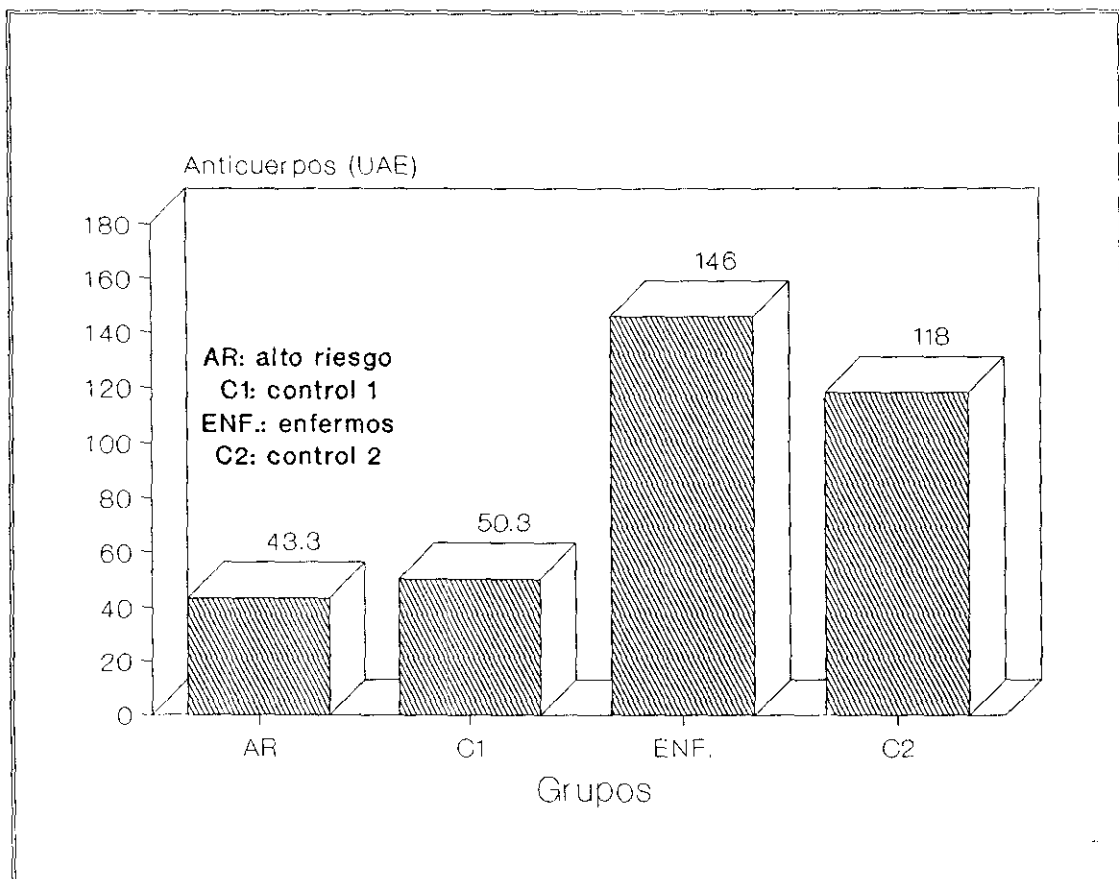


Figura 29: Distribución del nivel medio de anticuerpos en cada grupo.



Sólo encontramos diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) cuando se comparan grupos de diferente edad (alto riesgo "versus" enfermos, alto riesgo "versus" subgrupo control 2, enfermos "versus" subgrupo control 1). Ello sugiere que estas variaciones son dependientes de la edad, no confirmándose el presumible elevado riesgo del personal de gastroenterología.

Al analizar la encuesta del personal de gastroenterología, no se encontró relación entre el nivel de anticuerpos y el uso de guantes durante las endoscopias, los años que se había trabajado en gastroenterología y la historia de sintomatología gástrica.

5. DISCUSION.

### H. PYLORI Y PATOLOGÍA GASTRO-DUODENAL.

Aunque las primeras observaciones de bacterias espirilares en el estómago humano se remontan a comienzos de siglo (Doenges 1.938), es en 1.984 cuando Marshall y Warren aislan a estas bacterias, actualmente conocidas como *H. pylori*, y describen su asociación con gastritis y enfermedad ulcerosa (Marshall y Warren, 1.984).

Desde este momento el interés por esta bacteria ha ido en aumento y muchos investigadores han estudiado en todo el mundo a *H. pylori*, describiendo su prevalencia en pacientes con patología gástrica (Kang et al 1.990; Rauws et al 1.988) y en individuos sanos (Loffeld et al 1.990 a; Barthel et al 1.988).

En general, el índice de colonización por *H. pylori* en pacientes con patología gastroduodenal es muy alto, 60-80% (Satti et al 1.990; Goodwin et al 1.987; Rauws et al 1.988), pero la prevalencia de este microorganismo varía en relación a la edad, nivel socioeconómico y localización geográfica (Megraud et al 1.989).

En nuestro país, Jiménez et al (1.986) encuentra *H.*

*pylori* en el 80,2% de los pacientes estudiados, valor muy similar al detectado en este estudio (80%).

Teniendo en cuenta que la edad media de nuestros pacientes es de  $59 \pm 14$  años, esta prevalencia es ligeramente superior a la que, mediante técnicas serológicas, detectamos en la población sana de similar edad.

En un principio la clasificación de los enfermos, se ha hecho en base al diagnóstico endoscópico. Pero como han puesto de manifiesto otros autores (Taor et al 1.975; Satti et al 1.990) y nuestro estudio muestra, no existe concordancia en el diagnóstico endoscópico e histológico de gastritis, y este diagnóstico se ha de hacer en base al estudio histológico de la mucosa.

Mediante el estudio histológico de las biopsias antrales, se aprecia que existe una asociación estadísticamente significativa entre gastritis crónica y presencia de *H. pylori*, pero al analizar el tipo de gastritis, no hemos podido demostrar, a diferencia de Marshall y Warren (1.984), que exista asociación entre *H. pylori* y actividad.

Para muchos autores, el tipo de gastritis crónica que se asocia significativamente con *H. pylori* es la gastritis

crónica activa (McNulty y Watson, 1.984; Andersen et al 1.987; Wyatt et al 1.986). Sin embargo, en otros estudios como en el nuestro, no se confirma que la actividad de la gastritis se relacione exclusivamente con la presencia de *H. pylori* (Jones et al 1.984; Price et al 1.985; García-Rodríguez et al 1.990).

Se han dado distintas explicaciones para estos diferentes resultados.

Uno de ellos puede ser la distribución salteada que presenta este tipo de lesión en la mucosa gástrica. Hazell et al (1.987) han sugerido que se necesitan 4 biopsias para detectar gastritis crónica activa, mientras que 2 biopsias podrían ser suficientes para detectar *H. pylori* (Börsch et al 1.987).

Para Bayerdorffer et al (1.989) el que el área de colonización por *H. pylori* sea más extensa que el área de gastritis crónica activa, en la mayoría de los pacientes, pueda dar lugar a diagnósticos falsos de gastritis crónica con *H. pylori* positivo, por la que la ausencia de leucocitos polimorfonucleares se debe a la distribución salteada de neutrófilos y no a un fallo metodológico para detectarlos.

Sin embargo, para Goodwin et al (1.987) estas diferencias pueden ser debidas a que, tal vez, el nivel que ponen algunos investigadores para afirmar que existen neutrófilos, es demasiado alto.

Existe una alta asociación entre *H. pylori* y patología gastroduodenal. *H. pylori* se detectó en el 83% de los pacientes con patología gastroduodenal, mientras que en ninguno de los individuos normales por histología y endoscopia se pudo demostrar la presencia de este microorganismo.

Cuando analizamos la colonización en los distintos grupos patológicos, se obtienen resultados semejantes a los publicados en otros estudios (Satti et al 1.990; Chodos et al 1.988).

En relación al grupo de pacientes que presentaban gastritis crónica sin ninguna otra patología, la prevalencia de infección por *H. pylori* ha sido muy alta (90%). Este resultado se asemeja a los publicados por otros autores (Blanco et al 1.987; The gastrointestinal physiology working group, 1.990; Rudelli et al 1.990) y confirman la estrecha asociación entre gastritis crónica tipo B y presencia de *H.*

**pylori.**

Esta asociación no se presenta en la gastritis crónica tipo A (O'Connor et al 1.984; Flejou et al 1.989). En nuestro caso, aunque sólo dos enfermos presentaban este tipo de gastritis, en ninguno de ellos se detectó *H. pylori*.

Si a esta estrecha y específica asociación se añade la capacidad de *H. pylori* para producir infección experimental en voluntarios humanos (Marshall et al 1.985 b; Morris et al 1.987) y en animales (Krakowka et al 1.987; Lambert et al 1.987), es lógico aceptar a *H. pylori* como un factor patogénico importante en la gastritis crónica tipo B.

La asociación entre *H. pylori* y úlcera péptica ha sido puesta de manifiesto por muchos autores (Rauws et al 1.988; Satti et al 1.990).

Para algunos el índice de colonización es mayor en las úlceras duodenales que en las gástricas. Marshall y Warren (1.984) encuentra *H. pylori* en el 100% de pacientes con úlcera duodenal y en el 77% de los pacientes con úlcera gástrica. Similares resultados obtienen Von Wulffen et al (1.986), con un 86% de infección en la úlcera duodenal y un 72% en la úlcera gástrica. Sin embargo, en otros estudios el

porcentaje de colonización en los dos tipos de úlcera es similar. Ayyagari et al (1.990) obtiene una tasa de colonización del 82,8% en la úlcera duodenal y de 84,6% en la úlcera gástrica. Para Goodwin et al (1.987) el porcentaje de colonización es del 100% en ambos tipos de úlcera.

En nuestro estudio, *H. pylori* se asocia significativamente con la úlcera péptica, siendo el porcentaje de colonización del 86% para la úlcera duodenal y del 89% para la úlcera gástrica.

El significado de estos diferentes resultados no está claro. Para Rauws et al (1.988), cuando se excluyen otras causas de úlcera gástrica, como es el tratamiento con determinados fármacos, la prevalencia de *H. pylori* en los pacientes con úlcera gástrica se aproxima al 100%.

Nuestro estudio muestra la ya conocida asociación de *ulcus péptico* y gastritis crónica antral (Schrager et al 1.967; Hui et al 1.986), existiendo gastritis antral en casi el 100% de los pacientes con úlcera péptica.

Si *H. pylori* se asocia con la gastritis crónica antral y sólo cuando se consigue la erradicación del microorganismo se observa la resolución del cuadro inflamatorio (McKenna et



al 1.987; McNulty et al 1.986), es lógico pensar que *H. pylori* puede ser el agente patógeno común a estas dos patologías gástricas. Los estudios que muestran que la erradicación de *H. pylori* conduce a la no recidiva de la úlcera apoyarían esta afirmación (Rauws y Tytgat, 1.990; Carrick et al 1.990).

La asociación de *H. pylori* con duodenitis, aunque no estadísticamente significativa tal vez debido al escaso número de pacientes, ha sido alta (71%), encontrándose gastritis antral casi en el 100% de los pacientes. En nuestro país, García-Rodríguez et al (1.990) han obtenido similares resultados.

Puesto que en el presente estudio sólo hubo un paciente con carcinoma gástrico, no podemos llegar a ninguna conclusión respecto a esta patología. Trabajos recientes muestran un mayor índice de colonización en pacientes con carcinoma gástrico que en población normal (Loffeld et al 1.990 b; Avellini et al 1.990; Boixeda et al 1.990), pero sugieren que son necesarios más estudios para conocer el significado de estos resultados.

En definitiva y en lo que se refiere a patología

gástrica, los resultados de nuestro estudio muestran que existe una alta prevalencia de infección por *H. pylori* en los pacientes con patología gástrica de nuestro medio y confirman la asociación de *H. pylori* con gastritis crónica antral, ya sea ésta la única lesión de la mucosa o se encuentre asociada a úlcera péptica.

#### **DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR H. PYLORI.**

Respecto al diagnóstico de la infección producida por este nuevo microorganismo, hemos de señalar que es diferente al diagnóstico de otras infecciones, no sólo por el especial nicho ecológico donde se encuentra, sino porque es una infección crónica y persistente y *H. pylori* posee una fuerte actividad ureasa que es muy útil en el diagnóstico.

Ya que *H. pylori* se encuentra exclusivamente en la mucosa gastroduodenal, la obtención de la muestra para su diagnóstico, se ha de hacer mediante el uso de técnicas invasivas como es la endoscopia.

Puesto que estudios previos han puesto de manifiesto que

la biopsia antral es la muestra más adecuada para el diagnóstico de *H. pylori* (Warren y Marshall 1.983; Lamouliatte et al 1.987), se eligió esta zona para la toma de las biopsias.

Marshall et al (1.985 e) han descrito, que el uso de anestésicos tópicos durante la endoscopia, así como la contaminación del gastroscopio o que existan restos de desinfectante, puede ser causa de la inhibición de *H. pylori* en el cultivo.

En nuestro estudio no se utilizaron anestésicos y se procedió a la desinfección del gastroscopio con glutaraldehído, siendo posteriormente lavado cuidadosamente con agua estéril.

Se han descrito numerosos métodos para el diagnóstico de la infección de la mucosa gástrica por *H. pylori*: cultivo de las biopsias endoscópicas (Goodwin et al 1.985 a), tinción de Gram (Montgomery et al 1.988), prueba de la ureasa (McNulty et al 1.989), exámen histológico (Jones et al 1.984), diagnóstico serológico (Rathbone et al 1.986 b) y prueba del aliento con urea marcada (Marshall y Surveyor, 1.988).

Pero la eficacia de cada método como técnica de

diagnóstico va a depender de cual sea el estándar con el que se le compare.

Puesto que los problemas que presentan estas técnicas disminuyen su sensibilidad diagnóstica, se deben realizar, al menos, 3 ó 4 pruebas para diagnosticar infección por *H. pylori* (Megraud, 1.989).

En nuestro estudio se diagnosticó infección por *H. pylori* cuando el cultivo, Gram o histología fué positivo. Este fué el criterio de positividad con el que se compararon cada una de las técnicas ensayadas y que anteriormente ha sido utilizado por otros autores (Marshall et al 1.987 b; Morris et al 1.989).

Posiblemente, las tinciones histológicas son las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de infección por *H. pylori*, ya que presentan la ventaja de que además de detectar a la bacteria nos proporcionan información sobre el cuadro morfológico de la mucosa gástrica.

En este estudio, hemos utilizado la tinción rutinaria en histología, de hematoxilina eosina y la tinción, recomendada por muchos autores, de Warthin-Starry (Warren y Marshall, 1.983). Sólo en algunos casos se tiñeron las biopsias con

Giemsa.

La visualización de bacterias compatibles con *H. pylori* en las preparaciones histológicas, ha sido el método que nos aporta mayor sensibilidad (88%), sólo superado por el diagnóstico serológico, pero no podemos olvidar que este último es un diagnóstico indirecto.

En algún caso hemos detectado a la bacteria con el Gram o el cultivo y no con las tinciones histológicas.

Estos falsos negativos se pueden explicar por lo desigual distribución de *H. pylori* en las biopsias (Bayerdörffer et al 1.989; Goodwin et al 1.985 a), ya que las muestras remitidas a Anatomía Patológica son diferentes de las enviadas a Microbiología.

Para Morris et al (1.989) en un 9% de los pacientes infectados, *H. pylori* se encontraba presente en una biopsia, pero no en otra que había sido tomada al mismo tiempo. Por lo que sugiere que el examen de varios cortes de dos biopsias antrales es mejor para el diagnóstico de infección por *H. pylori*, que el examen de varios cortes de una sola biopsia.

Sin duda, la tinción con Warthin-Starry es la que muestra con mayor claridad la presencia de estructuras bacterianas

curvadas típicas de *H. pylori*, pero estamos de acuerdo con Dooleey et al (1.988), en que es la que mayores dificultades técnicas presenta, por su frecuente precipitación.

Algunos autores creen que la tinción con Giemsa es superior a la hematoxilina-eosina. Sin embargo, Madan et al (1.988) en un estudio comparativo, no fué capaz de demostrar diferencias significativas entre las dos tinciones.

Nosotros creemos que, con experiencia, la visualización de *H. pylori* mediante la tinción habitual de hematoxilina-eosina, es muy satisfactoria y la tinción con Giemsa no mejora mucho los resultados.

Aunque los resultados de la detección de ureasa no son totalmente comparables, ya que no se hicieron al mismo número de muestras, podemos afirmar que la ureasa inmediata es más útil que la tardía cuando se realiza a temperatura ambiente. Ello puede deberse al posible deterioro de la muestra por la demora entre su obtención y su procesamiento y a la utilización de mayor cantidad de tejido en la prueba inmediata.

Deltenre et al (1.989) obtiene resultado semejantes a los nuestros con el CLO test y la ureasa tardía, por lo que

sugiere que para que la sensibilidad sea adecuada, se requiere una incubación inmediata de la biopsia.

Muchas otras causas pueden reducir la sensibilidad de las pruebas que detectan ureasa: que exista un número reducido de bacterias en la muestra (Koch et al 1.990), la distribución salteada que presenta *H. pylori* (Morris et al 1.989) y que el paciente esté tratado con sales de bismuto, amoxicilina o anti  $H_2$  (Deltenre et al 1.989; Koch et al 1.990).

Como previamente ha sido descrito por Borromeo et al (1.987), con nuestro estudio hemos podido observar una asociación significativa entre el número de bacterias vistas en el Gram y el tiempo requerido para la positivación del CLO test, lo que confirma que la cantidad de bacterias presentes en la muestra, es importante para aumentar la eficacia diagnóstica de estas pruebas.

Mobley et al (1.988) han sugerido que la temperatura óptima para la detección de la ureasa de *H. pylori* es 43° C. Basándonos en este estudio hemos incubado la biopsia gástrica en el meido de Christensen a 43° C. A pesar de detectar la ureasa tardía y la menor cantidad de muestra, la sensibilidad aumenta considerablemente superando a la del CLO test y

alcanzando un 100% de especificidad.

Abdalla et al (1.989) detecta la ureasa inmediata a temperatura ambiente y a 55° C, y obtiene una sensibilidad del 62% y 93% respectivamente.

A la vista de estos resultados creemos que la sensibilidad y especificidad máxima de la ureasa se obtendrán cuando la prueba, ya sea de caldo urea de Christensen o en un medio comercial como el CLO test, se realicen inmediatamente a la extracción de la muestra y se incuben a 43° C.

Pero, puesto que bacterias como *Proteus*, *Klebsiella* o *Pseudomonas*, frecuentes contaminantes de las biopsias, pueden dar reacciones positivas, estamos de acuerdo con otros autores (Monés y Sainz, 1.988) en que la prueba de la ureasa, a pesar de ser un buen método de screening, no puede considerarse como específico de infección por *H. pylori*.

El cultivo es la técnica de referencia en bacteriología, pero en el caso de *H. pylori* no es fácil.



Gran cantidad de factores pueden afectar a esta frágil bacteria e influir en la sensibilidad del cultivo.

Goodwin et al (1.985 a) recomiendan como medio de transporte una pequeña cantidad de líquido hipotónico (glucosa al 20%) para impedir que se pierdan bacterias en el medio de transporte. En este medio la biopsia se puede mantener a 4° C durante 5 horas sin pérdida de viabilidad. cuando la biopsia se mantiene en Cl Na al 0,9% a temperatura ambiente, *H. pylori* pierde rápidamente su viabilidad (Hartmann y Von Graevenitz, 1.987).

Para Coudron y Kirby (1.989), no se ve afectado el aislamiento de este microorganismo cuando la biopsia se mantiene en tripticasa soja caldo a temperatura ambiente, de 1 a 8,5 horas (media  $2,9 \pm 1,2$  horas).

En este estudio hemos utilizado como medio de transporte glucosa al 20% y manteniendo la biopsia a 4° C por un tiempo máximo de 2 horas.

Goodwin et al (1.985 a) han informado que cuando se prepara el inóculo triturando la biopsia con glucosa al 20%, se produce mayor crecimiento que cuando la siembra se hace troceando la biopsia.

También Coudron y Kirby (1.989) recomiendan triturar la biopsia en un mortero estéril antes de la siembra.

Nosotros hemos triturado las biopsias con glucosa al 20%, porque después de realizar algunas siembras en paralelo, triturando y troceando la biopsia, comprobamos, como Goodwin, que el crecimiento era mejor.

En muy pocos estudios se hace referencia a la necesidad de una atmósfera húmeda para el aislamiento de *H. pylori*.

Goodwin et al (1.985 a) comunican la necesidad de una humedad, de al menos un 98%, para el aislamiento primario de este microorganismo. En este estudio hemos podido comprobar este hecho, ya que no conseguimos aislar a *H. pylori* hasta que no tuvimos en cuenta este requerimiento.

En nuestra experiencia, el cultivo de las muestras biópsicas en el medio de AS no ha sido bueno, por la gran cantidad de contaminaciones que se encontraron y que impidieron crecer a *H. pylori*.

Estas contaminaciones disminuyeron, de una forma importante, cuando empleamos medios selectivos. Con el SK y el VNA, conseguimos la misma eficacia en el aislamiento, aunque tal vez, por contener menos inhibidores, el

crecimiento fué mayor y más rápido en el SK.

Las principales causas de contaminación pudieron ser, la prolongada incubación en atmósfera húmeda, así como la hipoclorhidria que presentan estos enfermos y que permite el crecimiento de gran cantidad de flora contaminante.

Como han puesto de manifiesto otros autores (Buck, 1.990; Goodwin y Armstrong, 1.990) y a la vista de nuestros resultados, para el aislamiento de *H. pylori*, se deben incluir medios selectivos. Sin embargo, y puesto que se ha comunicado que los medios selectivos pueden inhibir el crecimiento de este microorganismo (Ansorg et al 1.991) creemos que para aumentar la sensibilidad del cultivo, éste se debe realizar con medios selectivos y no selectivos.

Varios autores (Marshall et al 1.985 e; Goodwin et al 1.985 a) han descrito que el tratamiento con antagonistas de los receptores  $H_2$  puede inhibir el crecimiento de *H. pylori*.

Nosotros no hemos podido demostrar que el tratamiento con alcalinos o anti  $H_2$  influyera de una manera significativa en el cultivo, aunque se ha observado un mayor número de contaminaciones del cultivo en los enfermos con estos tratamiento.

Jiménez et al (1.986) han puesto de manifiesto la dificultad para trabajar con este microorganismo, por su rápida pérdida de viabilidad.

En un estudio realizado por Ansorg et al (1.991) sólo el 8% de las cepas aisladas se mantuvieron viables después de repetidos subcultivos.

Nuestro estudio se ha visto limitado, precisamente, por la rápida muerte de los microorganismos aislados. De los 42 aislados de *H. pylori*, sólo podemos estudiar su sensibilidad antimicrobiana en 28.

A pesar de las dificultades del cultivo, una de las causas por la que este método diagnóstico tiene gran importancia, es porque es el único que nos permite conocer la sensibilidad antimicrobiana de los aislados de *H. pylori*.

Es interesante señalar, la resistencia al metronidazol observada en nuestros aislados de *H. pylori*.

La utilización en el tratamiento de nitroimidazoles, como metronidazol, ha dado los mejores resultados en la erradicación de *H. pylori* (Borody et al 1.988; O'Riordan et al 1.989). Sin embargo, los pacientes infectados con aislados de *H. pylori*, resistentes al metronidazol, no responden a

este tratamiento, por lo que estudiar la sensibilidad antimicrobiana es de gran importancia.

En un estudio realizado por Glupczynski et al (1.990), *H. pylori* no fué erradicado en ninguno de los 13 pacientes infectados con microorganismos resistentes al metronidazol. En este mismo trabajo se pone de manifiesto que las tasas de resistencia encontradas varían de unos países a otros. Mientras que en Bruselas la resistencia es del 27%, en el Zaire se observa una resistencia del 84%.

En nuestro país, López-Brea et al (1.990 a), detectan una resistencia al metronidazol del 12,5%, cifra similar a la que hemos encontrado en nuestro estudio (11%).

La tinción de Gram ha sido utilizada como método diagnóstico de infección por *H.pylori* en muchos estudios (Von Vulffen et al 1.986; Marshall et al 1.987 b; Morris et al 1.989).

En nuestra experiencia, la tinción de Gram es una técnica sencilla y rápida, con la que se consiguen buenos resultados.

Parsonnet et al (1.988) han descrito que cuando la tinción de Gram se hace de la impronta de la biopsia, se obtienen mejores resultados que cuando se hace del triturado.

En la primera parte de este estudio hemos detectado que cuando hacíamos el Gram frotando la biopsia por el porta, las bacterias se podían observar con más claridad y en mayor número que cuando la extensión se hacía con el triturado.

En el Gram-frotado, las bacterias se solían ver agrupadas a lo largo de las fibras de moco y no entre los restos de tejido como ocurría en el Gram-triturado

La importancia de utilizar carbol fuchina como contracolorante, ha sido puesta de manifiesto por Coudron y Kirby (1.989).

En este estudio hemos podido comprobar como este colorante incrementa el contraste de la bacteria con lo que se hace más fácil, la observación de bacterias espirilares características de *H. pylori*.

#### **DIAGNOSTICO SEROLOGICO.**

Hasta ahora, el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, se ha basado en la detección de este microorganismo en biopsias gástricas, obtenidas por gastroscopia. Pero las

personas infectadas con *H. pylori*, producen anticuerpos frente a esta bacteria (Goodwin et al 1.987; Pérez-Pérez et al 1.988; Musgrove et al 1.988), lo que ha sugerido otro medio de diagnóstico.

Para la determinación de anticuerpos frente a *H. pylori*, se han empleado la mayoría de las técnicas serológicas conocidas (Marshall et al 1.984; Jones et al 1.984; Loffeld et al 1.989; Nilius et al 1.990).

En general, la tasa de detección depende no sólo del antígeno utilizado, sino también de la técnica empleada, siendo el enzimoimmunoensayo (ELISA) la que mejores resultados aporta (Wyatt y Rathbone 1.989).

En nuestro estudio hemos utilizado un ELISA comercial (GAP-IgG), con varios antígenos de *H. pylori* altamente purificados. La sensibilidad para detectar infección por *H. pylori* ha sido alta (90%), pero la especificidad no ha sido buena. De los cuatro enfermos con anticuerpos y sin infección bacteriana, tres tenían un diagnóstico histológico de gastritis crónica activa, y en el cuarto la muestra no fué adecuada para estudio histológico, por lo que es posible que la serología haya sido la única técnica que ha detectado la

presencia de *H. pylori*.

En un estudio realizado por Pérez-Pérez et al (1.988) también se detectan anticuerpos en pacientes con gastritis confirmada histológicamente y *H. pylori* negativo y sugieren que, tal vez, se deba a la distribución salteada que presenta esta bacteria.

La importancia que tiene la distribución salteada, tanto de la lesión histológica como del microorganismo, en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, ha sido puesta de manifiesto por Bayerdörffer et al (1.989). Para este autor, si no se tiene en cuenta este hecho, puede disminuir la especificidad de los métodos serológicos.

La utilización como antígeno de células sonicadas completas, pueden dar lugar a reacciones cruzadas con otras bacterias como *Campylobacter jejuni* (Newell, 1.987). En nuestro estudio se demuestra la especificidad del antígeno utilizado porque no hemos detectado anticuerpos en el suero de enfermos con infección por *Campylobacter*.

Biasco et al (1.990) utiliza la misma técnica (ELISA GAP-IgG) y obtienen resultados similares. Sin embargo, Oever et al (1.990), con una modificación de la técnica, obtienen una



especificidad más alta y sugieren que, una vez adaptados los criterios de evaluación de la técnica, es necesario utilizar un buen estándar de infección para mejorar la especificidad.

En la actualidad, se conoce mal la respuesta serológica tras la infección por *H. pylori*.

Los estudios serológicos realizados, tras la ingestión por dos voluntarios de *H. pylori*, han puesto de manifiesto que en uno, tras producirse un cuadro de infección aguda, no hubo seroconversión (Marshall et al 1.985), mientras que en el otro, en que la infección pasó a convertirse en crónica, la seroconversión ocurrió entre 23 y 33 días después de la infección, detectándose únicamente IgG (Morris y Nicholson, 1.987).

En la mayoría de los casos, la infección por *H. pylori*, es una infección crónica y puede perdurar a lo largo de la vida (Langenberg et al 1.988), por lo que la respuesta inmune es predominantemente IgG, que parece ser característica de los adultos crónicamente infectados (Rathbone et al 1.986 b).

Los resultados de nuestro estudio muestran que, niveles altos de IgG anti HP en suero, se asocian con la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica, pero son necesarios más

estudios serológicos para conocer el patrón serológico de la infección por *H. pylori* y así poder determinar el valor diagnóstico de las técnicas serológicas.

#### ANTICUERPOS EN POBLACION SANA

Mientras la utilidad de la serología como técnica diagnóstica está sujeta a controversia (McKinlay et al 1.990), nadie duda de su importante papel para conocer la epidemiología de *H. pylori*.

Actualmente está bien establecida la implicación de *H. pylori* como la causa más frecuente e importante de gastritis (Dooley y Cohen, 1.988) y su asociación con úlcera duodenal, úlcera gástrica y dispepsia no ulcerosa (Graham, 1.989), pero poco se sabe acerca de su origen y modo de transmisión.

En varios estudios se ha demostrado que *H. pylori* es frecuente en todo el mundo (Jones et al 1.986; Graham et al 1.987 b; Al-Moagel et al 1.988; Wyatt et al 1.987 a) y que la tasa de infección aumenta con la edad (Pérez-Pérez et al 1.988; López-Brea et al 1.990 b; Loffeld et al 1.990),

existiendo variaciones en relación al nivel socioeconómico, raza y localización geográfica (Graham et al 1.988 b; Megraud et al 1.989).

Estudios previos han puesto de manifiesto (Siurala et al 1.968) que la gastritis crónica se incrementa con la edad, y estos resultados parecen corresponderse con los que se han descrito para la infección por *H. pylori* (Graham et al 1.988 a; Reiff et al 1.989; Loffeld et al 1.990 a).

Kosunen et al (1.989), estudian la respuesta serológica en donantes de sangre, por grupos de edad, utilizando un enzimoimmunoensayo, detectando unas tasas de anticuerpos que van del 10% para el grupo de 18-25 años, hasta el 60% en el de 56-65 años.

En nuestro país, Reina et al (1.989), utilizando como técnica de detección de anticuerpos la inmunofluorescencia indirecta, no encuentra ninguna relación estadística entre el título de anticuerpos y la edad de las personas estudiadas. Sin embargo López-Brea et al (1.990), en un estudio reciente, obtiene cifras similares a las nuestras.

En nuestro estudio el nivel de anticuerpos aumenta significativamente con la edad, desde un 5,7% para el grupo

de 10-20 años, hasta un 78,1% para los mayores de 51 años. No hemos encontrado diferencias significativas en el nivel de anticuerpos por sexos dentro de cada grupo de edad, hecho que ha sido puesto de manifiesto por otros autores (Megraud et al 1.989; Reiff et al 1.989).

La información obtenida de la población sana, a través del cuestionario, revela que no existe relación entre el nivel de anticuerpos y la existencia de sintomatología gástrica. Esta observación es confirmada por Gregson et al (1.989), cuando estudian la prevalencia de gastritis por *H. pylori* en voluntarios asintomáticos y pacientes con sintomatología gástrica, no encontrando diferencias en la tasa de aislamiento en los dos grupos, cuando tienen cuenta la edad.

Estos datos sugieren, que, también en nuestro ambiente, la exposición a *H. pylori* es frecuente y está muy extendida. No hay duda de que la edad y la exposición, son dos factores importantes para que se produzca la infección por *H. pylori*. Tanto las alteraciones que ocurren en la mucosa gástrica, relacionadas con la edad, como una exposición más frecuente a este microorganismo en adultos, explicarían la tasa de

anticuerpos obtenida en nuestro estudio.

**ANTICUERPOS ANTI-H. PYLORI EN PERSONAL DE GASTROENTE-  
TEROLOGIA, PACIENTES Y POBLACION SANA.**

Cómo y cuando se adquiere la infección por *H. pylori*, se desconoce en la mayoría de los casos.

Se han realizado múltiples estudios con el objetivo de confirmar un posible mecanismo de transmisión (Drumm et al 1.989; Reiff et al 1.989; Lambert et al 1.990 a). La primera posible vía de infección se pudo encontrar en un trabajo publicado por Ramsey et al (1.979), donde un electrodo no estéril causó gastritis en 17 de los 37 estudiantes participantes. En un estudio posterior de las biopsias se demostró la presencia de *H. pylori* en los 17 pacientes. Otros autores han confirmado esta transmisión indirecta, persona a persona principalmente vía endoscópica (Gullini et al 1.988; Hunt et al 1.985). Drumm et al (1.989) han sugerido la transmisión directa de *H. pylori* en el seno de familias para explicar la incidencia elevada de anticuerpos frente a *H.*

*pylori* en las familiar de niños en los que se había detectado dicho microorganismo.

En general, se ha encontrado una mayor prevalencia de anticuerpos frente a *H. pylori* entre las personas que viven en comunidades cerradas (Berkowicz y Lee, 1.987; Lambert et al 1.990 b), lo que apoyaría el mecanismo de transmisión persona a persona.

En nuestro estudio hemos elegido a personal de gastroenterología y lo hemos considerado como individuos de riesgo potencial, ya que al estar expuestos a las secreciones gastrointestinales de enfermos con *H. pylori*, podrían tener un riesgo mayor de infección. Sin embargo, no hemos encontrado una mayor prevalencia de anticuerpos entre el personal de gastroenterología cuando lo comparamos con su grupo control. Sólo existen diferencias significativas cuando se comparan grupos con diferentes edades. Ello sugiere que esta mayor prevalencia de anticuerpos es dependiente de la edad, no confirmándose así el presumible elevado riesgo del persona de gastroenterología.

Otros grupos han estudiado este tema, así Mitchell et al (1.989) encuentran una mayor incidencia de infección en el

grupo de gastroenterólogos, pero el aumento de la infección en las enfermeras del Servicio de Endoscopias no fué estadísticamente significativo. Para Rawles et al (1.987) la frecuencia de anticuerpos frente a *H. pylori* es de tres a cuatro veces superior en el personal de endoscopias en comparación con los donantes de sangre, aunque las diferencias en los porcentajes encontrados, no son estadísticamente significativos. No obstante, sugiere un incrementado riesgo para el personal en contacto con secreciones gastrointestinales.

Con este estudio, no podemos confirmar el presumible elevado riesgo del personal de gastroenterología, pero tal vez sea necesaria la realización de otros estudios con mayor número de individuos para que estos resultados sean más concluyentes.

6. **CONCLUSIONES.**



Del estudio realizado podemos extraer las siguientes conclusiones:

- 1) El índice de colonización por *H. pylori* en los pacientes con sintomatología gástrica de nuestro medio es del 80%.
- 2) *H. pylori* se asocia significativamente con la existencia de inflamación crónica antral.
- 3) Este estudio confirma la asociación de *H. pylori* con gastritis y úlcera péptica. En el caso de duodenitis esta asociación fue elevada (70%), aunque no estadísticamente significativa.
- 4) Para asegurar el diagnóstico de infección por *H. pylori* son necesarios varios métodos diagnósticos.
- 5) Para el aislamiento de *H. pylori* es necesario utilizar medios de cultivo selectivos, así como una atmósfera húmeda.

- 6) La prueba de la ureasa aumenta su sensibilidad y especificidad cuando se realiza inmediatamente a la extracción de la biopsia y a 43° C.
- 7) Los aislados de *H. pylori* muestran una resistencia al metronidazol del 11%, siendo sensibles al resto de los antimicrobianos ensayados.
- 8) Niveles altos de IgG anti-*H. pylori* en suero de los enfermos se asocian con la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica. Por lo que la detección de anticuerpos puede ser un indicador de infección por este microorganismo.
- 9) En la población sana estudiada el nivel de anticuerpos frente a *H. pylori* aumenta significativamente con la edad y es independiente del sexo.

- 10) No se confirma el presumible elevado riesgo del personal de Gastroenterología para adquirir la infección por *H. pylori*.

7. **BIBLIOGRAFIA**

**BIBLIOGRAFIA**

1. Abdalla S, Marco F, Pérez RM et al: Rapid detection of gastric *Campylobacter pylori* colonization by a simple biochemical test. J Clin Microbiol 1989, 27:2604-2605.
2. Al-Moagel MA, Evans DG, Abdulghani ME, et al: Prevalence of *Helicobacter* (formerly *Campylobacter*) *pylori* infection in Saudia Arabia, and comparison of those with and without upper gastrointestinal symptoms. Am. J Gastroenterol 1988, 85:944-948
3. Andersen LP, Holck S, Povlsen CO, Elsborg L, Justesen T: *Campylobacter pyloridis* in peptic ulcer disease. I. Gastric and duodenal infection caused by *Campylobacter pyloridis*: Histopathologic and Microbiologic findings. Scand J Gastroenterol 1987, 22:219-224.
4. Andreasen JJ, Andreasen LP: In vitro susceptibility of *Campylobacter pyloridis* to cimetidine, sucralfate, bismuth and sixteen antibiotics. Acta Pathol Immunol Scand 1987, 95:147-149.

5. **Ansorg R, Von Recklinghausen G, Pomarius R, Schmid EN:** Evaluation of techniques for isolation, subcultivation and preservation of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1991, 29:51-53.
6. **Avellini C, Cocchi V, Paganelli GM, Biasco G:** Evaluation of presence and amount of *Helicobacter pylori* in early gastric cancer. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):92.
7. **Ayyagari A, Ray P, Kochhar R et al:** Evaluation of different methods for detection of *Helicobacter pylori* in patients with gastric disease. *Indian J Med Res* 1990, 91:126-158.
8. **Barer MR, Elliott TSJ, Berkeley D et al :** Cytopathic effects of *Campylobacter pylori* urease. *J Clin Pathol* 1988, 45:597.
9. **Barskerville A, Newell DG :** Naturally occurring chronic gastritis and *Campylobacter pylori* infection in the rhesus monkey: a potential model for gastritis in man. *Gut* 1988, 29: 465- 472.

10. Barthel JS, Everett ED: Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: The "Gold Standard" and the alternatives. *Rev Infect Dis* 1990, 12:107-114.
11. Barthel JS, Westblom TU, Havey AD, Gonzalez F, Everett ED: Gastritis and *Campylobacter pylori* in healthy asymptomatic volunteers. *Arch Intern Med* 1988, 148:1149-1151.
12. Bayerdörffer E, Mannes GA, Höchter W et al: Relapse rate of *Helicobacter pylori* (HP) positive duodenal ulcers (DU) following antibacterial therapy. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):110.
13. Bayerdörffer E, Oertel H, Lehn N, et al: Topographic association between active gastritis and *Campylobacter pylori* colonization. *J Clin Pathol* 1989, 42:834-839.
14. Bayerdörffer E, Ottenjann R: The role of antibiotics in *Campylobacter pylori* associated peptic ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 1988, 23 (suppl 142):93-100.
15. Berkowicz J, Lee A: Person-to-person transmission of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1987, 2:680-681.

16. **Betetto G, Gessoni G, Chiozzini G, Vitalba A and Saggiaro A:** Prevalence of *Helicobacter pylori* in hospital environment. *Rev Esp Enf Dig* 1990, 78 (suppl 1):46.
17. **Biasco G, Masci C, Paganelli GM, Barbara L:** Serum levels of IgG anti-*Helicobacter Pylori* in non-ulcer dyspepsia patients. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78 (suppl 1):63.
18. **Biasco G, Miglioli M, Barbara L, Corinaldes R, Febo GD:** Omeprazol, *Helicobacter pylori*, gastritis and duodenal ulcer. *Lancet* 1989, 2:1403.
19. **Bizzozero G:** Ueber die schlauchformigen drusen des magendarmkanals und die beziehung ihres epithels zu dem oberflachenepithels der schleimhaut. *Archiv für Microscopiche Anatomie* 1893, 42:82-152.
20. **Blanco M, Pajares JM, López-Brea M:** Incidencia de *Campylobacter pylori* en lesiones de la mucosa gastroduodenal. *Rev As Cast Ap Dig* 1987, 3(4):174-181.
21. **Blaser MJ:** Gastric *Campylobacter*-like organisms gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1987, 93(suppl 1):371- 383.



22. Blaser MJ: Type B gastritis, aging and *Campylobacter pylori*. Arch Intern Med 1988, 148:1021-1022.
23. Blaser MJ: Epidemiology and Pathophysiology of *Campylobacter pylori* infections. Rev Infect Dis 1990, 12 (suppl 1):599-106.
24. Blaser MJ, Brown WR: Campylobacters and gastroduodenal inflammation. Adv Intern Med 1989, 34:21-42.
25. Bode G, Malfertheiner P, Ditschuneit H: Pathogenetic implications of ultrastructural findings in *Campylobacter pylori* related gastroduodenal disease. Scand J Gastroenterol 1988, 23(suppl142):25-39.
26. Boixeda D, San Roman AL, Erdozain JC et al: Increased incidence of *Helicobacter pylori* in gastric cancer as shown by the rapid urease test (RUT). Rev Esp Enf Digest 1990, 78 (suppl1):92.
27. Booth L, Holdstock G, Macbride H et al: Clinical importance of *Campylobacter pyloridis* and associated serum IgG and IgA antibody responses in patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy. J Clin Pathol 1986, 39:215-219.

28. Borody Y, Cole P, Noonan S et al: Long term *Campylobacter pylori* recurrence post-eradication. *Gastroenterology* 1988, 94:A43.
29. Borromeo M, Lambert JR, Pinkard JK: Evaluation of "CLO-test" to detect *Campylobacter pyloridis* in gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1987, 40:462-468.
30. Börsch G, Adamek R, Sandmann M et al : Comparison of biopsy urease test and histologic examination for detection of *Campylobacter pylori*. *Hepatogastroenterol* 1987, 34:236-241.
31. Börsch G, Mai U, Opferkuch W: Oral trial therapy (OTT) may effectively eradicate *Campylobacter pylori* (CP) in man: a pilot study. *Gastroenterology* 1988, 94:A44.
32. Bronsdon MA and Schenknecht FD: *Campylobacter pylori* isolated from the stomach of the monkey *Macaca nemestrina*. *J Clin Microbiol* 1988, 26:1725-1728.
33. Buck GE: *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. *Clin Microbiol Rev* 1990, 3:1-12.

34. Buck GE, Gourley WK, Lee WK et al: Relation of *Campylobacter pyloridis* to gastritis and peptic ulcer. *J Infect Dis* 1986, 153:664-669.
35. Buck Ge, Smith JS: Medium supplementation for growth of *Campylobacter pyloridis*. *J Clin Microbiol* 1987, 25:597-599.
36. Burnett RA, Forrest JAH, Girdwood RWA, Fricker CR: *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet* 1984, 1:1349.
37. Canton R, De Rafael L, Boixeda D et al: In vivo acquired resistance to fluoroquinolones in *Helicobacter pylori* during therapy with ciprofloxacin or ciprofloxacin + amoxicillin / clavulanate. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):98.
38. Carrick J, Daskalopoulos G, Mitchell H, Lee A: Successful eradication of *Helicobacter pylori* infection prevents recurrence of duodenal ulceration. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):132.

39. **Catrenich LE, Makin KM:** Characterization of the morfological conversion of *Helicobacter pylori* from bacillary to coccoid forms. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):3.
40. **Chodos JE, Dworkin BM, Smith F et al:** *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease: a prospective endoscopie study and comparison of diagnostic tests. *Am J Gastroenterol* 1988, 83:1226- 1230.
41. **Coghlan JG, Gilligan D, Humphreys H et al:** *Campylobacter pylori* and recurrence of duodenal ulcers a twelve month follow up study. *Lancet* 1987, 2:1109-1111.
42. **Cohen H, Gramisu M, Fitzgibbons P et al:** *Campylobacter pylori*:associations with antral and fundic mucosal histology and diagnosis by serology in patients with upper gastrointestinal symptoms. *Am J Gastroenterol* 1989, 84:367-371.
43. **Coudron PE, Kirby DF:** Comparison of rapid urease tests, staining techniques and growth on different solid media for detection of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1989, 27:1527-1530.

44. Cover TL, Blaser MJ: Human serologic response to *Campylobacter pylori* cytotoxin associated proteins. *Gastroenterology* 1989, 96:A101.
45. Crespo M, Pajares JM, Lancho A, López-Brea M, Blanco M: Prevalence of *Helicobacter pylori* in patients with malignant growth of gastric mucosa. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):92- 93.
46. Das SS, Bain LA, Karim QN, Coelho LG, Varon JH: Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis* infection. *J Clin Pathol* 1987, 40:701-702
47. Davenport HW: Is the apparent hyposecretion of acid by patients with gastric ulcer a consequence of a broken barrier to diffusion of hydrogen ions into the gastric mucosa?. *Gut* 1965 6:513.
48. Debognie JC, Legros G, Wantelet M, Beyaert C, Mainguet P: Evaluation de le valeur de la cytologie pependoscopie dans la identification du *Campylobacter pylori* sur la muqueuse gastrique. *Gastroenterol Clin Biol* 1987, 11:764-767.

49. **Deltenre M, Glupczynski Y, De Prez C et al:** The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1989, 24 (suppl160):19-24.
50. **Dent JC, Mc Nulty CAM:** Evaluation of a new selective medium for *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988, 7:555-558.
51. **Dent JC, McNulty CAM, Uff JS, Gear MWL, Wilkinson SP:** *Campylobacter pylori* urease: a new serological test. *Lancet* 1988, 1:1002.
52. **Doenges JL:** Spirochetes in gastric glands of *Macacus rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proc Exp Med Biol* 1938, 38:469-477.
53. **Dooley CP, Cohen H:** The clinical significance of *Campylobacter pylori*. *Ann Intern Med* 1988, 108:70-79.
54. **Dooley CP, Fitzgibbons P, Cohen H et al:** Prevalence and distribution of *Campylobacter pylori* in an asymptomatic population. *Gastroenterology* 1988, 94:A102.

55. Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman P: Intrafamilial clustering of *Campylobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1989, 96:130.
56. Drumm B, Sherman P, Chiasson D, Karmali M, Cutz E: Treatment of *Campylobacter pylori* associated antral gastritis in children with bismuth subsalicylate and ampicillin. *J Pediatr* 1988, 113:908-912.
57. Eaton KA, Morgan DR, Krakowka S: *Campylobacter pylori* virulence factors in gnotobiotic piglets. *Infect Immun* 1989, 57:1119-1125.
58. Eldridge J, Lessells AM, Jones DM: Antibody to spiral organisms on gastric mucosa. *Lancet* 1984, 1:1237.
59. Engstrand L, Pahlson C, Gustavsson S, Schwan A: Monoclonal antibodies for rapid identification of *Campylobacter pyloridis*. *Lancet* 1986, 2:1402-1403.
60. Estrin H, Hassan M, Czinn C: Antral brushing and biopsies for gastric *Campylobacter pyloridis*: a comparative study of a ureasa test, culture and histology. *Gastrointest Endosc* 1987, 33:147-148.

61. **Figura N, Guglielmetti P, Rossolini A, et al:** Cytotoxin production by *Campylobacter pylori* strains isolated from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. *J Clin Microbiol* 1989, 27:225-226.
  
62. **Fitzgerald D, Murphy P:** Studies on the physiological chemistry and clinical significance of urease and urea with special reference to the stomach. *Irisch J Med Sci* 1950, 292:99- 153.
  
63. **Flejou JF, Bahame P, Smith AC, et al:** Pernicious anaemia and *Campylobacter* like organisms: Is the gastric antrum resistant to colonization. *Gut* 1989, 30:60.
  
64. **Freedberg AS, Barron LE:** The presence of spirochetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis* 1940, 7:443-445.
  
65. **Frommer DJ, Carrick J, Lee A, Hazell SL:** Acute presentation of *Campylobacter pylori* gastritis. *Am J Gastroenterol* 1988, 83:1168-1171.



66. **García-Rodríguez JA, García-Sánchez Je, García-García MI et al:** Características de la infección por *Helicobacter (Campylobacter) pylori* en nuestro medio. *Med Clin* 1990, 95:648- 652.
67. **Gasbarrini G, Pretolani S, Bonvicini F et al:** Clinicopathological correlations with *Helicobacter pylori* presence in dyspeptic patients. *Rev Esp Enf Digest* 1990, (suppl) 78:68.
68. **Gilman RJ, Leon-Barua R, Koch J et al:** Rapid identification of *Campylobacter pyloridis* in Peruvians with gastritis. *Dig Dis Sci* 1986, 31:1089-1094.
69. **Glupczynski Y, Burette A, De Koster E et al:** Metronidazol resistance in *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1990, 335:976-977.
70. **Glupczynski Y, Burette A, Labbe M et al:** *Campylobacter pylori*-associated gastritis: a double-blind placebo-controlled trial with amoxicillin. *Am J Gastroenterol* 1988, 83:365-372.

71. Glupczynski Y, Labbe M, Burette A et al: Treatment failure of ofloxacin in *Campylobacter pylori* infection. *Lancet* 1987, 1:1096.
72. Goodwin CS: Duodenal ulcer, *Campylobacter pylori* and the "leaking roof" concept. *Lancet* 1988, 2:1467-1469.
73. Goodwin CS, Armstrong JA: Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990, 9:1-13.
74. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers et al: Transfer of *Campylobacter pyloridis* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen nov as *Helicobacter pylori* comb nov and *Helicobacter mustelae* comb nov respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989, 39:397-405.
75. Goodwin Cs, Armstrong JA, Marshall BJ: *Campylobacter pyloridis* gastritis and peptic ulceration. *J Clin Pathol* 1986a, 39:353-365.

76. Goodwin CS, Blake P, Blincow E: The minimum inhibitory and bactericidal concentrations of antibiotics and anti-ulcer agents against *Campylobacter pyloridis*. *J Antimicrob Chemother* 1986b, 17:309-314.
77. Goodwin CS, Blincow E, Peterson G et al: Enzyme-linked Immunoassay for *Campylobacter pyloridis*: Correlation with presence of *Campylobacter pyloridis* in the gastric mucosa. *J Infect Dis* 1987,155:488-494.
78. Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR et al: Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1985a, 38:1127-1131.
79. Goodwin CS, Collins MD, Blincow E: The absence of thermoplasmaquinona in *Campylobacter pyloridis* and its temperature and pH growth range. *Microbiol Lett* 1986c, 32:137-140.
80. Goodwin CS, McCulloch RK, Armstrong JA, Wee SH: Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*). *J Med Microbiol* 1985b, 19:257-267.

81. **Graham DY: Campylobacter pylori and peptic ulcer disease. Gastroenterology 1989, 96:615-625.**
82. **Graham DY, Evans DJ, Evans DG: Detection of Campylobacter pylori infection. Lancet 1989a, 2:569.**
83. **Graham Dy, Klein PD, Evans Jr DJ et al: Campylobacter pylori detected noninvasively by the C-urea breath test. Lancet 1987a, 1:1174-1477.**
84. **Graham DY, Klein PD, Openkun AR, Boutton TW: Effect of age on the frequency of active Campylobacter pylori infection diagnosed by the ( C) urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. J Infect Dis 1988a, 157:777- 780.**
85. **Graham DY, Klein PD, Opekun AR et al: Epidemiology of Campylobacter pyloridis infection. Gastroenterology 1987b, 92:1411.**
86. **Graham DY, Klein PD, Opekun AR et al: Epidemiology of Campylobacter pylori infection: Ethnic considerations. Scand J Gastroenterol 1988b, 23(suppl 142):9-13.**

87. **Graham DY, Klein PD, Opekun AR et al:** In vivo susceptibility of *Campylobacter pylori* . Am J Gastroenterol 1989b, 84:233-238.
88. **Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ:** Simplified techniques for identifying *Campylobacter pyloridis*. J Clin Pathol 1986, 39:1279.
89. **Gregson DB, Low DE, Cohen MM et al:** The presence of *Campylobacter pylori* gastritis among asymptomatic adults. Can Med Assoc 1989, 140:1449-1456.
90. **Gullini S, Boccini S, Contarini D et al:** Is transmission of *Campylobacter pylori* by endoscopy examination possible?. Endoscopy 1988, 20:162.
91. **Gustavson S, Phillips SF, Malagelada JR, Rosenblatt JE:** Assessment of *Campylobacter*-like organisms in the postoperative stomach, iatrogenic gastritis and chronic gastroduodenal diseases: preliminary observations. Mayo Clin Proc 1987, 62:265- 268.

92. Hamilton I, O Connor H, Wood N, Bradbury I, Axon A: Healing and recurrence of duodenal ulcer after treatment with tripotassium dicitrato bismuthate tablets or cimetidine. Gut 1986, 27:106-110.
93. Hartman D, Von Graevenitz A: A note on name, viability and urease tests of *Campylobacter pylori*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1987, 6:82-83.
94. Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ et al: *Campylobacter pyloridis* gastritis: II Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. Am J Gastroenterol 1987, 82:297-301.
95. Hazell SL, Lee A: *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion and gastric ulcers. Lancet 1986, 2:15-17.
96. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W: *Campylobacter pyloridis* and gastritis: Association with intracellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonisation of the gastric epithelium. J infect Dis 1986, 15:658-663.

97. Holcombe L, Tsimiri S, Elaridg EJ and Jones DM: Prevalence of antibody to *Helicobacter pylori* in children in Northern Nigeria. *Rev Esp Enf Dig* 1990, (suppl1) 78:39.
98. Hui Wh, Lam Sk, Ho J et al: Chronic antral gastritis in duodenal ulcer: natural history and treatment with prostaglandin E. *Gastroenterology* 1986, 91:1095-1101.
99. Humphreys H, Bourke S, Dooley C et al: Effect of treatment on *Campylobacter pylori* in peptic ulcer disease: a randomised prospective trial. *Gut* 1988, 29:279-283.
100. Hunt RH and Darkin D: Epidemic hypochlorhydria. *Br Med J* 1985, 291:53.
101. Itoh T, Yanagawa Y, Shingaki M et al: Isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa and characterisation of the isolates. *Microbiol Immunol* 1987, 31:603- 614.
102. Iwahi T, Satoh H, Nakao M et al: Lansoprazole, a novel benzimidazol proton pump inhibitor and its related compounds have selective activity against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991, 35:490-496.

103. Jimenez ML, Blanco M, Pajares JM, López-Brea M: Aislamiento de *Campylobacter pyloridis* en lesiones inflamatorias y ulcerativas de la mucosa gastroduodenal y estudio de la respuesta serológica. Rev Esp Microbiol Clin 1986, 1:356-368.
104. Johansen A, Hansen OH: Heterotopic gastric epithelium in the duodenum and its correlation to gastric disease and acid level. Acta Pathol Microbiol Scand 1973, 81:676-680.
105. Johnston BJ, Reed PI, Ali MH: *Campylobacter*-like organisms in duodenal and antral endoscopic biopsies: Relationship to inflammation. Gut 1986, 27:1132.
106. Johnston BJ, Reed PI, Ali MH: Prevalence of *Campylobacter pylori* in duodenal and gastric mucosa-relationship to inflammation. Scand J Gastroenterol 1988, 23(suppl142):69-75.
107. Jones DM, Curry A: Ultrastructural study of gastric *Campylobacter*-like organisms from man, baboon, pig and ferret. In: Kaijser B, Falsen E, ed. *Campylobacter* IV. University of Göteborg 1988, 109.



108. Jones DM, Curry A, Fox AJ: An ultrastructural study of the gastric *Campylobacter*-like organism, "*Campylobacter pyloridis*". J Gen Microbiol 1985, 131:2335-2341.
109. Jones DM, Eldridge J, Fox AJ, Sehti P, Whorwell PJ: Antibody to the gastric and *Campylobacter*-like organisms ("*Campylobacter pyloridis*") clinical correlations and distribution in the normal population. J Med Microbiol 1986, 22:57-62.
110. Jones DB, Howden CW, Burget DW, Kerr GD, Hunt RH: Acid suppression in duodenal ulcer: a meta-analysis to define optimal dosing with antisecretory drugs. Gut 1987, 28:1120-1127.
111. Jones DM, Lessells AM, Eldridge J: *Campylobacter*-like organisms on the gastric mucosa: culture, histology and serological studies. J Clin Pathol 1984, 37:1002-1006.
112. Kaldor J, Tee W, McCarthy P, Watson J, Dwyer B: Immune responses to *Campylobacter pyloridis* in patients with peptic ulceration. Lancet 1985, 1:921.

113. Kang JY, Wee A, Math MV et al: *Helicobacter pylori* and gastritis in patients with peptic ulcer and non-ulcer dyspepsia ethnic differences in Singapore. *Gut* 1990, 31:850-885.
114. Kasper GF: Natural Sources and Microbiological Characteristics of *Campylobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1988 (suppl 142):14-15.
115. Kasper GF, Dickgiesser N: Antibiotic sensitivity of *Campylobacter pyloridis*. *Eur J Clin Microbiol* 1984, 3:444.
116. Kekki M, Villako K, Tamm A, Siurala M: Dynamics of antral and fundal gastritis in an Estonian rural population sample. *Scand J Gastroenterol* 1977, 12:321-324.
117. Koch HK, Baumert B, Koch U, Oehlert M, Oehlert W: Prevalence of *Campylobacter pylori* as demonstrated by Histology or CLO-test in different types of gastritis. *Path Res Pract* 1990, 186:154-158.
118. Kosunen TM, Höök J, Rautelin HI, Myllylä G: Age-dependent increase of *Campylobacter pylori* antibodies in blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1989, 24:110-114.

119. Kraiden S, Bohnen J, Anderson J et al: Comparison of selective and nonselective media for recovery of *Campylobacter pylori* from antral biopsies. *J Clin Microbiol* 1987, 25:117-118.
120. Krakowka S, Morgan DP, Kraft WG, Leunk RD: Establishment of gastric *Campylobacter pylori* infection in the neonatal gnotobiotic piglet. *Infect Immun* 1987, 55:2789-2796.
121. Labenz J, Gyenes E, Rühl GH, Börsch G: Bismuth-Metronidazole therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enf Digest* 1990a, 78(suppl 7):103-104.
122. Labenz J, Gyenes E, Rühl GH, Börsch G: Amoxicillin-omeprazole treatment for eradication of *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enf Digest* 1990b, 78(suppl1):96.
123. Lambert JR, Borromeo M, Pinkard KJ et al: Colonisation of gnotobiotic piglets with *Campylobacter pyloridis*. An animal model? *J Infect Dis* 1987, 155:1344.

124. Lambert JR, Dunn KL, Turner H, Korman MG: Effect on histological gastritis following eradication of *Campylobacter pyloridis*. *Gastroenterology* 1986, 90(5):A1509.
125. Lambert JR, Lin SK, Nicholson et al: Prevalence of *Helicobacter pylori* in abattoir workwers. *Rev Esp Enf Dig* 1990a, 78(suppl 1):18.
126. Lambert JR, Lin SK, Nicholson L et al: Seroepidemiological study of *Helicobacter pylori* antibodies in institutionalised adults. *Rev Esp Enf Dig* 1990b, 78(suppl1):41.
127. Lambert JR, Lin SK, Schembri M, Nicholson L, Korman MG: *Helicobacter pylori* therapy randomised study of Denol/antibiotic combinations. *Rev Esp Enf Digest* 1990c, 78(suppl1):115-116.
128. Lambert JR, Way DJ, King RG, Wan A, McLean AJ: Bismuth pharmacokinetics in the human gastric mucosa. *Gastroenterology* 1988, 94:A248.

129. Lamouliatte H, Bernard PH, Boulard A et al: Controlled study of Omeprazole-Amoxicillin-Tinidazole vs Ranitidine-Amoxicilline- Tinidazole in *Helicobacter pylori*. Associate duodenal ulcers preliminary results. Rev Esp Enf Dig 1990a, 78(suppl1):101.
130. Lamouliatte H, Cayla R, Bernard PH, Quinton A: Meta-analysis of randomised trials of *Helicobacter pylori* associated non-ulcer-dyspepsia. Rev Esp Enf Digest 1990b, 78(suppl1):67.
131. Lamouliatte H, Megraud F, De Mascarel A, Roux D, Quinton A: *Campylobacter pyloridis* and epigastric pain: endoscopic, histological and bacteriological correlations. Gastroenterol Clin Biol 1987, 11:216-216.
132. Lane MR, Lee SP: Recurrence of duodenal ulcer after medical treatment. Lancet 1988, 1:1147-1149.
133. Langenberg W, Rauws EAJ, Houthoff HJ et al: Follow-up study of individuals with untreated *Campylobacter pylori* associated gastritis and of noninfected persons with non-ulcer dyspepsia. J Infect Dis 1988, 157:1245-1249.

134. Langenberg ML, Rauws EAJ, Schipper MEI et al: The pathogenic role of *Campylobacter pyloridis* studied by attempts to eliminate these organisms in: *Campylobacter* III. Proceedings of the Third International Workshop on *Campylobacter* infections. London: Public Health Laboratory Service 1985:162-163.
135. Langenberg W, Rauws EAJ, Widjojokusuh A, Tytgat GNJ, Zanen HC: Identification of *Campylobacter pyloridis* isolates by restriction endonuclease DNA analysis. *J Clin Microbiol* 1986, 24:414-417.
136. Langenberg ML, Tytgat GN, Schipper MEI, Rietra PJG, Sanen HC: *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet* 1984, 1:1348.
137. Lanza FL, Rack MF, Peterson DF: Eradication of *Campylobacter pyloridis* with bismuth subsalicylate. *Am J Gastroenterol* 1986, 81:853.
138. Leif Percival A: High frequency of *Helicobacter pylori* antibodies in Denmark. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):37- 38.

139. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ: Manual of Clinical Microbiology. Washington DC. Ed Am Soc Microbiol 1985.
140. Leunk RD, Johnson PT, David BC, Kraft WG, Morgan DR: Cytotoxic activity in broth culture filtrates of *Campylobacter pylori*. J Med Microbiol 1988, 26:93-99.
141. Lior H, Johnson WN: Catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities in *Campylobacter* spp. In: Pearson AD, Skirrow MB, Lior H, Rowe B (eds) *Campylobacter* III, PHLS. London 1985, pp 226-227.
142. Loffeld RJ, Flendrig JA, Stobberingh E, Van Spreeuwel JF, Arenas JW: Diagnostic value of an immunoassay to detect *Campylobacter pylori* antibodies in non-ulcer dyspepsia. Lancet 1989 1:1182-1185.
143. Loffeld RJ, Potters HVPJ, Arenas JW et al: *Campylobacter* associated gastritis in patients with non-ulcer dyspepsia. J Clin Pathol 1988, 41:85-88.

144. Loffeld RJ, Stoberingh E, Van Spreeuwel JP et al: The prevalence of anti-Helicobacter (Campylobacter) pylori antibodies in patients and healthy blood donors. J Med Microbiol 1990a, 32(2):105-109.
145. Loffeld RJ, Willems I, Flendrig JA, Arenas JW: A role for Helicobacter pylori in gastric carcinoma?. Rev Esp Enf Digest 1990b, 78(suppl1):91.
146. López-Brea M: Antibioterapia en las infecciones por Campylobacter pylori. Rev Esp Quimioterap 1989, 2:211-214.
147. López-Brea M, Martín E, Sanz JC et al: Helicobacter pylori: Susceptibility to amoxicillin versus metronidazol. Rev Esp Enf Digest 1990a, 78(suppl1):93.
148. López-Brea M, Pajares JM, Blanco M, Jiménez ML: Diagnóstico rápido de Campylobacter pylori en biopsias gástricas utilizando bromuro de etidio. Rev Esp Microbiol Clin 1988, 3:194-196.



149. López-Brea M, Sanz JC, Martín E, Samaniego J, López Lavid C: Seroepidemiological study in Spanish adult population of *Helicobacter pylori* using a rapid latex test. Rev Esp Enf Digest 1990b, 78 (suppl1):31-32.
150. Madan E, Kemp J, Westblom TU et al: Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. Am J Clin Pathol 1988, 90:450-453.
151. Mai U, Geis G, Leying H, Ruhl G, Opferkuch W: Dimorphism of *Campylobacter pylori*. In: Megraud F, Lamouliatte H (ed): Gastroduodenal pathology and *Campylobacter pylori*. Excerpta Medica. Amsterdam 1989 pp29-33.
152. Mainquet P, Delmee M, Debongnie JC: Omeprazole, *Campylobacter pylori* and duodenal ulcer. Lancet 1989, 2:389-390.
153. Malfertheiner P, Lehnhardt G, Ditschuneit H: Influence of 6 different bismuth-salts on growth, morphology and viability of *Helicobacter pylori* in vitro. Rev Esp Enf Digest 1990, 78(suppl1):126.

154. Marshall BJ: *Campylobacter pylori*: the state of the art. Ital J Gastroenterol 1987, 19(suppl 3):27.
155. Marshall BJ, Armstrong JA, Francis GJ, Wokes NT, Wee SH: Antibacterial action of bismuth in relation to *Campylobacter pyloridis* colonisation and gastritis. Digestion 1987a, 37(suppl2):16-30.
156. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Francis GJ: The antimicrobial action of bismuth: early results of antibacterial regimens in the treatment of duodenal ulcer (abstract). In: *Campylobacter* III. Proceedings of the Third International Workshop. London: Public Health Laboratory Service 1985a:161.
157. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ: Attempt to fulfill Kochs postulates for pyloric *Campylobacter*. Med J Aust 1985b, 142:436-469.
158. Marshall BJ, Goodwin CS: Revised nomenclature of *Campylobacter pyloridis*. Int J Syst Bacteriol 1987 37:68.

159. Marshall BJ, Goodwin CS, Warren JR et al: Prospective double-blind study of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. Lancet 1988, 2:1437-1442.
160. Marshall BJ, Mc Gechie DB, Francis GJ, Ultley PJ: Pyloric *Campylobacter* serology. Lancet 1984a, 2:281.
161. Marshall BJ, Mc Gechie DB, Rogers PA, Glancy RJ: Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. Med J Aust 1985c, 142:439-444.
162. Marshall BJ, Royce H, Annear DI et al: Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. Microbios Lett 1984b, 25:83-88.
163. Marshall BJ, Surveyor I: Carbon-14 urea breath test for the diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J Nucl Med 1988, 29:11-16.
164. Marshall BJ, Warren JR: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984, 1:1311-1315.

165. Marshall BJ, Warren JR, Francis GJ et al: Rapid urease test in the management of *Campylobacter pyloridis* associated gastritis. *Am J Gastroenterol* 1987b, 82:200-210.
166. McIsaac RL, Mc Canles I, Summers K, Wood JR: Ranitidine and cimetidine in the healing of duodenal ulcer: meta-analysis of comparative clinical trials. *Aliment Pharmacol Therap* 1987, 1:369-381.
167. McKenna D, Humphreys H, Dooley C, et al: *Campylobacter pyloridis* and histological gastritis in duodenal ulcer: a controlled prospective randomized trial. *Gastroenterology* 1987, 92:1528.
168. McKinlay AW, Upadhyay R, Gemmell CG, Russell RI: *Helicobacter pylori*: bridging the credibility gap. *Gut* 1990, 31:940-945.
169. McNulty CAM: Pathogenicity of *Campylobacter pylori*- a causative factor in gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1989, 24(suppl 160):3-6.

170. McNulty CAM: Bismuth subsalicylate in the treatment of gastritis due to *Campylobacter pylori*. Rev Infect Dis 1990, 12(suppl 1):94-98.
171. McNulty CAM, Dent JC, Ford GA, Wilkinson SP: Inhibitory antimicrobial concentrations against *Campylobacter pylori* in gastric mucosa. J Antimicrob Chemother 1988, 22:729-738.
172. McNulty CAM, Dent JC, UFF JS, Gear MWL, Wilkinson SP: Detection of *Campylobacter pylori* by the biopsy urease test: an assessment in 1445 patients. Gut 1989 30:1058-1062.
173. McNulty CAM, Dent JC, Wise R: Susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter pylori* to 11 antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 1985, 28:837-838.
174. McNulty CA, Gearty JC, Crump B et al: *Campylobacter pyloridis* and associated gastritis: investigator blind placebo controlled trial of bismuth salicylate and erythromycin ethylsuccinate. Br Med J 1986, 293:645-649.
175. McNulty CA, Watson AM: Spiral bacteria of the gastric antrum. Lancet 1984, 1:1068-1069.

176. McNulty CA, Wise R: Rapid diagnosis of *Campylobacter* associated gastritis. *Lancet* 1985, 1:1443-1444.
177. McNulty CA, Wise R: Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis* gastritis. *Lancet* 1986, 1:387.
178. Megraud F: Morphological and biochemical characterisation of *Campylobacter pylori*. In: Menge H, Gregor M, Tytgat GNJ, Marshall BJ (ed): *Campylobacter pylori*: Proceeding of the First International Symposium on *Campylobacter pylori*. Springer, Berlin 1988a p3-16.
179. Megraud F: Comparison of different test por *Campylobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1988b (suppl 142):64-68.
180. Megraud F: Methodes bacteriologiques pour le diagnostic de *Campylobacter pylori*. *Gastroenterol Clin Biol* 1989, 13:31-36.
181. Megraud F, Bonnet F, Garnier M, Lamouliatte H: Characterisation of *Campylobacter pyloridis* by culture enzymatic profile and protein content. *J Clin Microbiol* 1985, 22:1007-1010.

182. Megraud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbouri A, Qwynh Hoa D: Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J Clin Microbiol* 1989, 27(8):1870-1873.
183. Mertens JCC, Dekker W, Ligtoet EEJ, Blok P: Treatment failure of Norfloxacin against *Campylobacter pylori* and chronic gastritis in patients with nonulcerative dyspepsia. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33:256-257.
184. Meyer B, Werth B, Beglinger C, et al: *Helicobacter pylori* infection in healthy people: a dynamic process?. *Gut* 1991, 32:347-350.
185. Misiewicz JJ: The Sydney System: a new classification of gastritis. Summary working party report. 9th World Congresses of Gastroenterology, Sydney 1990.
186. Mitchell HM, Bohane TD, Berkowicz J, Hazell SL, Lee A: Antibody to *Campylobacter pylori* in families of index children with gastrointestinal illness due to *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1987, 2:681-682.

187. Mitchell HM, Lee A, Carrick J: Increased of *Campylobacter pylori* infection in gastroenterologists: further evidence to support person-to-person transmission of *Campylobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1989, 24:396-400.
188. Mobley HLT, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD: Characterisation of urease from *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1988, 26:831-836.
189. Monés J, Sáinz S: Ulcera péptica, gastritis y *Campylobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 1988, 11(suppl1):31-38.
190. Montgomery EA, Martin DF, Peura DA: Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by Gram's stain. *Am J Clin Pathol* 1988, 90:606-609.
191. Morgan DR, Freedman F, Depew CE, Kraft WG: Growth of *Campylobacter Pylori* in liquid media. *J Clin Microbiol* 1987, 25: 2123-2125.
192. Morgan D, Kraft W, Bender M et al: Nitrofurans in the treatment of gastritis associated with *Campylobacter pylori*. *Gastroenterology* 1988, 95:1178-1184.



193. **Morris A, Ali MR, Brown P, Lane M, Patton K:** *Campylobacter pylori* infection in biopsy specimens of gastric antrum : laboratory diagnosis and estimation of sampling error. *J Clin Pathol* 1989, 42:727-732.
194. **Morris A, McIntyre D, Rose T, Nicholson G:** Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis* infection. *Lancet* 1986, 1:149.
195. **Morris A, Nicholson G:** Ingestion of *Campylobacter pylori* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987, 82:192-199.
196. **Murakami M, Yoo JK, Hizumo J et al:** Role of gastric ammonia, urea and urease in gastric mucosal lesions in asotemia. *Gastroenterology* 1987, 92 (abstract):1545.
197. **Musgrove C, Bolton FJ, Krypczyk KH et al:** *Campylobacter pylori*: clinical, histological and serological studies. *J Clin Pathol* 1988, 41:1316-1321.
198. **Nedenskov-Sorensen P, Aase S, Bjorneklrtt A, Fausa O, Bukholm G:** Sampling efficiency in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and crhonic active gastritis. *J Clin Microbiol* 1991, 133:163-170.

199. **Newell DG:** Identification of the outer membrane proteins of *Campylobacter pyloridis* and antigenic cross-reactivity between *Campylobacter pyloridis* and *Campylobacter jejuni*. *J Gen Microbiol* 1987, 133:163-170.
200. **Newell DG, Johnston BJ, Ali MH, Reed PI:** An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the serodiagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1988, 23 (suppl 142):53-57.
201. **Newell DG, Stacey AR:** The serology of *Campylobacter pylori* infections. In: Rathbone BJ, Heatley RV (ed). *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Oxford: Blackwell scientific 1989:74-82.
202. **Niemela S, Katunen T, Lehtola J:** *Campylobacter*-like organisms in patients with gastric ulcer. *Scand J Gastroenterol* 1987, 22:487-490.
203. **Nilius M, Espenhain E, Halfertheiner P:** *Helicobacter pylori* IgG-antibody detection with Western-Blot and in comparison to different ELISA kits. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl1):46-47.

204. O'Connor HJ, Axon ATR, Dixon MF: Campylobacter-like organisms unusual in type A (pernicious anaemia) gastritis. Lancet 1984, 2:1091.
205. O'Connor HJ, Dixon HF, Wyatt JI et al: Effect of duodenal ulcer surgery and enterogastric reflux on Campylobacter pyloridis. Lancet 1986a, 2:1178-1181.
206. O'Connor HJ, Wyatt JI, Dixon MF, Axon ATR: Campylobacter-like organisms and reflux gastritis. J Clin Pathol 1986b, 39:531- 534.
207. Oever HLA, Van den Loffeld RJLF, Stobberingh EE: The usefulness of two ELISA-systems for the diagnosis of Helicobacter pylori-associated gastritis. Rev Esp Enf Digest 1990, 78(suppl 1):43-44.
208. O'Riordan T, Tobin A, Beattie S et al: Adjuvant metronidazol improves eradication of Campylobacter pylori in duodenal ulcer treated with colloidal bismuth subcitrate. Gut 1989, 30:A733.

209. Parsonnet J, Welch K, Compton C et al: Simple microbiologic detection of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1988, 26:948- 949.
210. Patchett S, Beattie S, Keane C, O'Morain C: *Helicobacter* in non ulcer dyspepsia a controlled trial. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):122.
211. Pérez-Pérez GI, Dworkin BM, Choods JE, Blaser MJ: *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988, 109(1):11-17.
213. Pérez-Pérez GI, Taylor DN, Bodhidatta L et al: Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infections in Thailand. *J Infect Dis* 1990, 161:1237-1241.
213. Peterson W, Lee E, Skoglund M: The role of *Campylobacter pyloridis* in epidemic gastritis with hypochlorhydria. *Gastroenterology* 1987, 92:1575.

214. Pettross CW, Appleman MD, Cohen H et al: Prevalence of *Campylobacter pylori* and association with antral mucosal histology in subjects with and without upper gastrointestinal symptoms. *Dig Dis Sci* 1988, 33:649-653.
215. Pinkard KJ, Harrison B, Capstick JA, Hedley G, Lambert JR: Detection of *Campylobacter pyloridis* in gastric mucosa by phase contrast microscopy. *J Clin Pathol* 1986, 39:112-113.
216. Price AB: Histological aspects of *Campylobacter pylori* colonisation and infection of gastric and duodenal mucosa. *Scand J Gastroenterol* 1988, 23(suppl142):21-24.
217. Price AB, Levi J, Dolby JM et al: *Campylobacter pyloridis* in peptic ulcer disease: microbiology, pathology and scanning electron microscopy. *Gut* 1985, 26:1183-1188.
218. Queiroz D, Mendez E, Rocha GA: Indicator medium for isolation of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1987, 25:2378-2379.
219. Ramsey EJ, Carey KV, Peterson WL et al: Epidemic gastritis with hypochlorhydria. *Gastroenterology* 1979, 76:1449-1457.

220. Rathbone BJ, Wyatt JI, Heatley RV: *Campylobacter pyloridis*: a new factor in peptic ulcer disease. *Gut* 1986a, 27:635-641.
221. Rathbone BJ, Wyatt JI, Worsley BW et al: Systemic and local antibody response to gastric *Campylobacter pyloridis* in non ulcer dyspepsia. *Gut* 1986b, 27:642-647.
222. Rauws EAJ, Langenberg W, Houthoff HJ, Zanen HC, Tytgat GNJ: *Campylobacter pyloridis* associated chronic active antral gastritis. A prospective study of its prevalence and the effects of antibacterial and antiulcer treatment. *Gastroenterology* 1988, 94:33-40.
223. Rauws EAJ, Tytgat GNJ: Curación de la úlcera duodenal asociada a erradicación de *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1990, 1:1233-1235.
224. Rawles JW, Harris ML, Paull G et al: Antibody to *Campylobacter pyloridis* in endoscopy personnel, patients and controls. *Gastroenterology* 1987, 92(5):1589.

225. Reiff, Jacobs E, Kist M: Seroepidemiological study of the immune response to *Campylobacter pylori* in potential risk groups. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989, 8:592-596.
226. Reina J, Alomar P: Metodos para el aislamiento de *Campylobacter pylori* a partir de biopsias gastroduodenales. *Rev Diag Biol* 1989, 38:3-6.
227. Reina J, Salva F, Alomar P: Análisis de la prevalencia de anticuerpos anti-*Campylobacter pylori* detectados en la población sana. *Rev Esp Enf Ap Digest* 1989, 76:151-154.
228. Rhodes J: Experimental production of gastric epithelium in the duodenum. *Gut* 1964, 5:454-458.
229. Rokkas T, Pursey C, Uzoechina L et al: *Campylobacter pylori* and non-ulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 1987, 82:1149-1152.
230. Rudelli A, Vialette G, Seurat P et al: *Helicobacter pylori*, gastritis and peptic ulcer disease in young male patients with upper gastrointestinal symptoms. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78 (suppl 1):82-83.

231. **Salomon H:** Ueber das Spirillum des Saugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. *Z Bakteriologie* 1896, 19:433-442.
232. **Sangaletti O, Lazzaroni M, Bianchi Porro G:** *Helicobacter pylori* and healing of refractory duodenal ulcer. Preliminary results of a randomised trial. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78 (suppl 1):110-111.
233. **Satti MB, Twum-Danso K, Al-Freihi HM et al:** *Helicobacter pylori* associated upper gastrointestinal disease in Saudi Arabia: a pathologic evaluation of 298 endoscopic biopsies from 251 consecutive patients. *Am J Gastroenterol* 1990, 85(5):527-534.
234. **Schrager J, Spink R, Mitra S:** The antrum in patients with duodenal and gastric ulcers. *Gut* 1967, 8:497-508.
235. **Sidebotham RL, Baron JH:** Hypothesis: *Helicobacter pylori*, urease, mucus and gastric ulcer. *Lancet* 1990, 1:193-195.
236. **Simor AE, Ferro S, Low DE:** Comparative in vitro activities of six new fluoroquinolones and other oral antimicrobial agents against *Campylobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33:108-109.



237. Siurala M, Isokoski M, Varis K, Kekki M: Prevalence of gastritis in a rural population: bioptic study of subjects selected at random. Scand J Gastroenterol 1968, 3:211-223.
238. Smith GW, Tasman-Jones C, Wiggins PM, Lee SP: Pig gastric mucus: a one way barrier for hydrogen ions. Gastroenterology 1985, 89:1313-1318.
239. Steer HW: Surface morphology of the gastroduodenal mucosa in duodenal ulceration. Gut 1984, 25:1203-1210.
240. Steer HW: Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. J Clin Pathol 1975, 28:639-646.
241. Steer HW, Hawtin PR, Newell DG: An ELISA technique for the serodiagnosis of *Campylobacter pyloridis* infection in patients with gastritis and benign duodenal ulceration. Serodiagnosis Immunother 1987, 1:253-259.
242. Stone JW, Wise R, Donovan IA, Gearty J: Failure of ciprofloxacin to eradicate *Campylobacter pylori* from stomach. J Antimicrob Chemother 1988, 22:92-93.

243. Talley NJ, Newell DG, Pérez-Pérez GF, Blaser M: Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: a comparison of Enzyme- Linked Immunosorbent Assays. *Rev Esp Enf Digest* 1990, 78(suppl 1):45.
244. Taor RE, Fox B, Ware J, Johnson AG: Gastritis gastroscopic and microscopic. *Endoscopy* 1975, 7:209-211.
245. Taylor DE, Hargreaves JA, Sherbaniuk RW, Jewell LD: Isolation and characterisation of *Campylobacter pyloridis* from gastric biopsies. *Am J Clin Pathol* 1987, 87:49-54.
246. Taylor DE, Karim QN: Urease activity of *Campylobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1988, 41:112.
247. The Gastrointestinal Physiology Working Group: Rapid identification of pyloric *Campylobacter* in Peruvians with gastritis. *Dig Dis Sci* 1986, 31:1089-1094.
248. The Gastrointestinal Physiology Working Group: *Helicobacter pylori* and gastritis in Peruvian patients: Relationship to socioeconomic level, age and sex. *Am J Gastroenterol* 1990, 85(7):819-823.

249. **Tompkins DS, West AP: Campylobacter pylori, acid and bile.**  
J Clin Pathol 1987, 40:1387.
250. **Tytgat GN, Rauws EA, De Koster E: Campylobacter pylori.**  
Scand J Gastroenterol 1988a, 23 (suppl 155):68-81.
251. **Tytgat GNJ, Rauws EA, Langenberg W, Houthoff HJ: Longterm follow-up of Campylobacter pylori associated gastritis after treatment with colloidal bismuth subcitrate and/or amoxicillin.** Gastroenterology 1988b, 94(5):A469.
252. **Vaira D, Holton J, Cairns SR, et al: Antibody titres to Campylobacter pylori after treatment for gastritis.** Br Med J 1988a, 297:397.
253. **Vaira D, Holton J, Cairns SR, et al: Urease tests for Campylobacter pylori: care in interpretation.** J Clin Pathol 1988b, 41:812-813.
254. **Vaira D, Holyon J, Falzon, et al: The benefit of treating dyspeptic patients with normal endoscopic appearances.** Rev Esp Enf Digest 1990, 78(suppl I):106-107.

255. Vaira D, Holton J, Londei M, et al: *Campylobacter pylori* in abattoir workers: Is it a zoonosis?. *Lancet* 1988c, 2:725-726.
256. Van Bohemen ChG, Langenberg ML, Rauws EAJ, et al: Rapidly decreased serum IgG to *Campylobacter pylori* following elimination of *Campylobacter* in histological chronic biopsy *Campylobacter* positive gastritis. *Immunology Letters* 1989, 20:59-61.
257. Van Caekenberghe DL, Breysens J: In vitro synergistic activity between bismuth suscitrate and various antimicrobial agents against *Campylobacter pyloridis* (*C. pylori*). *Antimicrob Agents chemother* 1987, 31:1429-1430.
258. Von Wulffen H, Heesemann J, Buetzow GH, et al: Detection of *Campylobacter pyloridis* in patients with antrum gastritis and peptic ulcers by culture, complement fixation test, and immunoblot. *J Clin Microbiol* 1986, 24:716-720.
259. Waghorn DJ: *Campylobacter pyloridis*: a new organism to explain an old problem?. *Postgrad Med J* 1987, 63:533-537.

260. Walters LL, Budin RE, Paul G: Acridine-orange to identify *Campylobacter pyloridis* in formalin fixed paraffin-embedded gastric biopsies. Lancet 1986, 1:42.
261. Walker SJ, Murray AE: A review of *Campylobacter pylori* in upper gastrointestinal disease. Br J Hosp Med 1988, 27:30-36.
262. Warren JR, Marshall BJ: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983, 1:1273-1275.
263. Weil J, Bell GD, Jones PH, et al: Erradication of *Campylobacter pylori*: are we being misled? Lancet 1988, 2:1245.
264. Westblom TU, Madan E, Czinn S, et al: Evaluation of pyloriset, a latex agglutination test for deteccion of *Helicobacter pylori*. Rev Esp Enf Digest 1990, 78(suppl I):32.

265. Westblom TU, Madan E, Kemp J, et al: Improved isolation/visualization of *Campylobacter pylori* from gastric biopsies using a biphasic transport medio. *Gastroenterology* 1988, 94:A494.
266. Whitehead R: Mucosal biopsy of the gastrointestinal tract. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1985.
267. Whitehead R, Truelove SC, Gear MWL: The histological diagnosis of chronic gastritis in fiberoptic gastroscope biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1972, 25:1-11.
268. Wormsley KG: Relapse of duodenal ulcer. *Br Med J* 1986, 293:1501.
269. Wyatt JI: *Campylobacter pylori*, duodenitis and duodenal ulceration. In: Rathbone BJ, Heatley RV, eds. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Oxford: Blackwell Scientific 1989: 117-124.
270. Wyatt JI, De Caestecker JS, Rathbone BJ, Heatley RV: *Campylobacter pyloridis* in tropical Africa. *Gut* 1987a, 28:1409- 1410.

271. Wyatt JI, Dixon MF: *Campylobacter*-associated chronic gastritis. Pathology Annual Ed. PP Rosen, RE Fechner 1990.
272. Wyatt JI, Rathbone BJ: Immune response of gastric mucosa to *Campylobacter pylori*. Scand J Gastroenterol 1988, 23(suppl 142):44-49.
273. Wyatt JI, Rathbone BJ: The role of serology in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. Scand J Gastroenterol 1989 160:27-34.
274. Wyatt JI; Rathbone BJ, Dixon MI, et al: *Campylobacter pyloridis* and acid-induced gastric metaplasia in the pathogenesis of duodenitis. J Clin Pathol 1987b, 40:841.
275. Wyatt JI, Rathbone BJ, Heatley RV: Local immune response to gastric *Campylobacter* in non-ulcer dyspepsia. J Clin Pathol 1986, 39:863-870.